

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA SAPONAIRE OFFICINALE EN PHARMACIE

THÈSE

POUR OBTENIR LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

(MENTION : PHARMACIE)

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier

Le 23 Décembre 1942

PAR

PIERRE AVEZOU

JURY : { MM. A. ASTRUC, Doyen, *Président*.
P. JAULMES, Professeur.
J. GIROUX, maître de conférences. } *Assesseurs.*

MONTPELLIER
IMPRIMERIE DE LA CHARITÉ
(Pierre-Rouge)

1942

AVEZOU (Pierre). —

Contribution à l'étude de la saponaire officinale en pharmacie. — *Montpellier, Impr. de la Charité, 1942, in-8°, 123 p., 8 gr.*

(Thèse Pharm., Montpellier, 1942, n° 296).

AVEZOU (Pierre). —

Contribution à l'étude de la saponaire officinale en pharmacie. — *Montpellier, Impr. de la Charité, 1942, in-8°, 123 p., 8 gr.*

(Thèse Pharm., Montpellier, 1942, n° 296).

AVEZOU (Pierre). —

Contribution à l'étude de la saponaire officinale en pharmacie. — *Montpellier, Impr. de la Charité, 1942, in-8°, 123 p., 8 gr.*

(Thèse Pharm., Montpellier, 1942, n° 296).

AVEZOU (Pierre). —

Contribution à l'étude de la saponaire officinale en pharmacie. — *Montpellier, Impr. de la Charité, 1942, in-8°, 123 p., 8 gr.*

(Thèse Pharm., Montpellier, 1942, n° 296).

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA SAPONAIRE OFFICINALE EN PHARMACIE

THÈSE

POUR OBTENIR LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

(MENTION : PHARMACIE)

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier

Le Décembre 1942

PAR

PIERRE AVEZOU

JURY : { MM. A. ASTRUC, Doyen, *Président*.
P. JAULMES, Professeur.
J. GIROUX, maître de conférences. } *Assesseurs.*

MONTPELLIER
IMPRIMERIE DE LA CHARITÉ
(Pierre-Rouge)

1942

Faculté de Pharmacie de Montpellier

ADMINISTRATION

MM.

A. ASTRUC (O. ✱, I. P. ☞)	<i>Doyen.</i>
A. FAUCON (O. ✱, I. P. ☞) ☞. C. ✱. G. O. ✱)	<i>Assesseur.</i>
TOURRETTE (I. P. ☞).....	<i>Secrétaire.</i>

PROFESSEURS

MM.

A. ASTRUC (O. ✱, I. P. ☞)	<i>Pharm. galénique et industrielle.</i>
C. HOLLANDE (I. P. ☞)	<i>Zoologie et microbiologie.</i>
A. JUILLET (I. P. ☞)	<i>Botanique et matière médicale.</i>
A. FAUCON (O. ✱, I. P. ☞, ☞, C. ✱, G. O. ✱)	<i>Pharmacie chimique.</i>
E. CANALS (I. P. ☞)	<i>Physique.</i>
P. JAULMES (A. ☞)	<i>Analyse et Toxicologie.</i>
R. DOLIQUE (A. ☞),	<i>Chimie minérale.</i>
R. GRANGER, chargé du cours.....	<i>Chimie biologique</i>

DOYEN HONORAIRE

M. G. MASSOL (✱, I. P. ☞, ☞)

PROFESSEURS HONORAIRES

MM.

F. JADIN (O. ✱, I. P. ☞), Doyen honoraire de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg.
M. MOUSSERON, (A. ☞) professeur à la Faculté des Sciences.

MAITRE DE CONFÉRENCES

M. J. GIROUX

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.

A. JUILLET (I. P. ☞)	<i>Botanique.</i>
A. FAUCON (O. ✱, I. P. ☞, ☞, C. ✱, G. O. ✱)	<i>Fonctions en chimie organique.</i>
E. CANALS (I. P. ☞)	<i>Hydrologie.</i>
P. JAULMES (A. ☞)	<i>Toxicologie.</i>
R. DOLIQUE (A. ☞)	<i>Chimie organique.</i>
J. GIROUX	<i>Zoologie.</i>
J. SUSPLUGAS	<i>Cryptogamie.</i>
L. ASTRUC	<i>Législation pharmaceutique.</i>

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.

L. FARRÉ (I. P. ☞)	<i>Chimie et Pharmacie.</i>
SUSPLUGAS	<i>Histoire naturelle.</i>
CASTEL	<i>Chimie.</i>

NOTA.— La Faculté de Pharmacie n'accepte la responsabilité d'aucune des opinions émises par les candidats dans les Thèses ou Synthèses qui sont présentées.



A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA GRAND'MÈRE

A MA MÈRE

A MON FRÈRE

A MA BELLE-SŒUR

MEIS ET AMICIS

A MON MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. ASTRUC

Doyen de la Faculté de Pharmacie
Professeur de Pharmacie Galénique et Industrielle
Correspondant national de l'Académie de Médecine
Officier de la Légion d'Honneur

A MONSIEUR LE PROFESSEUR P. JAULMES

Professeur d'Analyse et de Toxicologie
à la Faculté de Pharmacie

A MONSIEUR J. GIROUX

Maître de conférences



AVANT-PROPOS

Avant de soumettre ce modeste travail à l'appréciation de mes juges, mon premier devoir est d'exprimer à tous mes Maîtres de cette Faculté, ma profonde gratitude pour l'enseignement éclairé et substantiel qu'ils ont su me prodiguer.

Je suis tout heureux d'apporter ici, à Monsieur le doyen ASTRUC, le témoignage de ma vive reconnaissance. Les conseils judicieux et la haute autorité de ce Maître éminent m'ont permis de mener à bien ce travail. Je garderai un souvenir impérissable de sa paternelle bienveillance ; je le prie de bien vouloir accepter en ce jour, l'expression de ma profonde admiration.

Ma reconnaissance va également à Monsieur le professeur JAULMES, qui a bien voulu accepter de faire partie de mon jury de thèse et qui m'a toujours réservé, en son laboratoire, l'accueil le plus sympathique.

Je tiens tout particulièrement à remercier Monsieur GIROUX, maître de Conférences, dont le bienveillant intérêt me fut infiniment précieux dans les recherches qu'il me permit de poursuivre à ses côtés. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de ma sincère gratitude.

Mes remerciements s'adressent enfin à mes camarades de laboratoire, et principalement à Messieurs HOARAU, DEPRADE et Mademoiselle DESBORDES pour l'aide amicale qu'ils ont su m'apporter.



INTRODUCTION

Il est curieux de constater les vicissitudes subies par certaines drogues au cours des âges ; la saponaire est un exemple typique de ce phénomène. Très prônée dans l'antiquité et même jusqu'au siècle dernier, au point qu'elle était devenue une véritable panacée, elle est tombée aujourd'hui dans une disgrâce à peu près complète. C'est à peine si elle est utilisée parfois en médecine populaire. Et pourtant les saponines sont actuellement à l'ordre du jour et donnent lieu depuis un certain nombre d'années à une véritable floraison de travaux. Elles sont déjà fréquemment utilisées dans l'Industrie et leurs propriétés physiologiques permettent d'entrevoir leur large emploi dans une thérapeutique prochaine.

Or, la saponaire est le type même des drogues à saponine et, à ce titre, elle jouit d'une activité thérapeutique réelle. D'autre part, cette plante est douée de propriétés aphrogènes et détersives qu'il conviendrait peut-être d'utiliser en cette période difficile que nous traversons.

Ces raisons ont incité nos maîtres, Monsieur le doyen ASTRUC et Monsieur GIROUX, son agrégé, à nous confier un travail sur la saponaire officinale. Mais, au cours de nos recherches bibliographiques, nous est apparue l'importance de la détermination des indices mousse et hémolytique, comme moyens d'apprécier les propriétés aphrogènes et physiologiques d'une drogue à saponine. Nous nous sommes efforcé, dans une série de recherches personnelles, d'apporter certaines précisions dans

la détermination de ces deux indices, et de mettre au point une technique permettant leur emploi dans les préparations alcooliques. Pour toutes ces recherches personnelles, nous avons, bien entendu, conservé la saponaire comme matériel d'étude.

Enfin, dans un addendum, nous avons ébauché la toxicité de cette drogue ; nous nous excusons de n'avoir pu approfondir davantage ce chapitre, suivant le désir qui avait été exprimé par l'un de nos Maîtres.

Toutes ces considérations nous ont amené à adopter le plan suivant :

PREMIÈRE PARTIE

RECHERCHES ANTÉRIEURES.

CHAPITRE PREMIER : Étude botanique de la saponaire.

- I. Distribution.
- II. Historique.
- III. Description.
- IV. Caractères anatomiques.
- V. Localisation de la saponine.
- VI. Parties utilisées.

CHAPITRE DEUXIÈME : Étude chimique de la saponaire.

- I. Généralités.
- II. Étude particulière de la saponine de saponaire ou saporubrine.

CHAPITRE TROISIÈME : Étude physiologique de la saponaire.

- I. Propriétés générales des saponines.
- II. Propriétés de la saponaire et de sa saponine.
 - 1^o) Toxicité.
 - 2^o) Quelques effets physiologiques.

CHAPITRE QUATRIÈME : Emplois de la saponaire et formes médicamenteuses.

SECONDE PARTIE

RECHERCHES PERSONNELLES.

CHAPITRE PREMIER : Étude des variations de l'indice hémolytique.

I. Généralités.

II. Les préparations aqueuses de saponaire.

a) Influence de la température.

b) Influence du mode d'extraction.

c) Influence du pH.

III. Les préparations alcooliques de saponaire.

CHAPITRE DEUXIÈME : Étude des variations du chiffre-mousse.

I. Généralités.

II. Les préparations aqueuses de saponaire.

a) Influence du mode d'extraction.

b) Influence du pH.

III. Les préparations alcooliques.

ADDENDUM : Étude de la toxicité.

Ces deux parties exposées, nous en tirerons les conclusions.

PREMIÈRE PARTIE

RECHERCHES ANTÉRIEURES

CHAPITRE PREMIER

ÉTUDE BOTANIQUE.

La plante vulgairement appelée saponaire (de *sapo*, savon), est désignée sous les termes scientifiques de « *Saponaria officinalis* L. », « *Silene saponaria* Fries », « *Lychnis officinalis* Scop », « *Boottia vulgaris* Necker ».

Tous les noms vulgaires évoquent son utilisation traditionnelle comme produit de nettoyage : Saponaire officinale, saponaire, savonnaire, saponnière, herbe à savon, herbe à foulon et, en provençal : sabounetto.

C'est une plante de la famille des Caryophyllacées, Dicotylédones-dialypétales, à caractères naturels bien définis. Le

genre *Saponaria*, auquel elle appartient, comprend une vingtaine d'espèces habitant l'Europe, l'Asie et particulièrement la région méditerranéenne ; toutes ces espèces, fait remarquable, contiennent des saponines. Six espèces seulement sont acclimatées en France ; quatre d'entre elles sont rares : « *Saponaria lutea* L. », « *Saponaria bellidifolia* Sm », « *S. caespitosa* D.C. », « *Saponaria orientalis* L. » ; une assez fréquente : « *S. ocymoides* L. » ; et enfin « *S. officinalis* » qui est de beaucoup la plus courante.

I. — Distribution.

On rencontre la saponaire officinale dans presque toute l'Europe, en France, en Espagne, en Italie, ...ainsi qu'en Afrique du Nord et en Syrie, jusqu'à une altitude de 1.600 m. Elle est ubiquiste et s'épanouit de préférence dans les endroits à la fois humides et découverts, et particulièrement au bord des cours d'eau sur des emplacements quelque peu surélevés.

En outre, la grâce et l'élégance de son port, la délicatesse de son coloris la font cultiver comme plante ornementale, soit à fleurs simples, soit plus souvent à fleurs doubles. Certaines de ces variétés ont les étamines transformées en pétales ; chez d'autres, comme la variété horticole « hybrida », les pétales sont soudés entre eux. La saponaire peut, en effet, être cultivée avec la plus grande facilité, soit par les graines semées en place, soit encore par les drageons ou éclats de pieds séparés que l'on replante en automne.

Elle ne demande ensuite aucun soin et dès qu'elle a pris possession du terrain, elle devient envahissante et se propage par ses drageons, à tel point qu'il devient nécessaire de la cerner.

II. — Historique.

La saponaire est connue depuis la plus haute antiquité ; elle était employée comme plante détersive.

Il est probable qu'elle a été utilisée par les Romains dans les fouleries, mais secondairement, le produit le plus utilisé étant le struthion ; il est vrai que certains auteurs ont voulu voir dans le struthion la saponaire elle-même. Mais LOQUE [47] conteste cette allégation, en citant une référence de PLINE. Celui-ci assimile le struthion des Grecs à la radicule des Romains et le décrit comme une plante fleurissant en été, d'une odeur agréable, « épineuse », et à tige cotonneuse. Il ajoute que cette espèce croît en Asie, en Syrie, dans les lieux âpres et pierreux, et que celle de l'Euphrate est particulièrement estimée.

Ces caractères sont bien éloignés de ceux de la saponaire que nous décrirons plus loin. Cette description du struthion ou radicule (radicule = racine très ténue, étymologiquement) ne correspond d'ailleurs pas davantage aux caractères des racines des divers Gypsophila, et entre autres *G. Struthium* L. ou saponaire d'Egypte, *G. Arrostii* Gussone, d'Italie ou saponaire d'Espagne, *G. paniculata* L., d'Asie Mineure ou saponaire d'Orient, grosses racines assez semblables à celles de bryone ou de scammonée, et totalement différentes, par leur aspect morphologique, de la racine de saponaire.

Pour LOQUE, la saponaire aurait été employée accessoirement dans les fouleries et aussi chez les particuliers pour le blanchiment de la laine sous le nom « d'herba lanaria ». L'usage du savon en aurait réduit la consommation et en même temps aurait provoqué son changement de nom en celui de saponaria.

En dehors de son emploi comme produit détersif, la saponaire a été très utilisée en médecine et surtout en médecine populaire.

PLINE lui attribue la vertu d'augmenter et d'activer la sécrétion du lait.

Au x^e siècle, elle fut vantée par les médecins arabes qui l'utilisaient contre la lèpre, les scrofules, les ulcères, les dartres. D'après Henri LECLERC [46], la saponaire et le qoloumânou des Arabes ne seraient qu'une seule et même espèce, et ABD ALLAH BEN SALEH aurait obtenu, grâce à elle, la guérison d'une femme de Fez « dont les chairs gercées donnaient issue à un liquide de mauvaise nature ».

Au xv^e siècle, ses vertus rafraîchissantes étaient prônées.

Depuis, on lui a prêté d'innombrables propriétés médicales. C'est ainsi que MERAT et DE LENS [50] (1834), dans leur « Dictionnaire universel de matière médicale et de thérapeutique générale » citent l'emploi de la saponaire comme fondant, dépuratif, diurétique, apéritif, désobstruant, sudorifique. Ils ajoutent que la saponaire est recommandée dans les engorgements des viscères abdominaux, contre les affections lymphatiques des glandes et dans les cas de maladies de peau, d'ictères, de cachexie, de syphilis, de rhumatismes, de goutte. Ils invoquent les autorités de STAHL et de BERGIUS, qui en préconisent l'usage dans les cas de douleurs articulaires, d'origine vénérienne ou goutteuse, mais à condition que l'administration soit accompagnée de mercure.

De plus, en dehors des propriétés déjà citées, la saponaire passait pour être émétique, purgative, emménagogue et même aphrodisiaque.

Enfin, d'après LOQUE [47], des essais auraient été tentés à l'Hôpital Saint-Louis, en 1881, essais qui auraient montré une efficacité réelle dans les cas de maladies psoriques.

Les formes suivantes étaient utilisées : décoction (30 à 100 grammes par litre d'eau), suc (100 à 200 g. par jour), tisanes de feuilles et de racines, sirop, extrait.

Mais l'emploi de la saponaire était également fréquent pour l'usage externe. On confectionnait des cataplasmes avec les feuilles et on les appliquait dans les cas d'engorgements lymphatiques œdémateux ; les décoctions étaient réputées souveraines contre les engorgements ganglionnaires, les dartres et les démangeaisons ; le bain de saponaire passait pour émollient.

Ajoutons, en dernier lieu et pour terminer cette évocation historique, que les feuilles ont été utilisées sur les cautères en guise de lierre, et que la poudre de feuilles a même servi dans la composition d'ersatz de tabacs à priser.

III. — Description.

La saponaire officinale est une élégante plante herbacée vivace, haute de 30 à 70 cm., qui fleurit de juin à octobre. Sa tige est glabre, noueuse, cylindrique, rouge à la base ; quelquefois elle rampe au sortir de la terre pour se redresser brusquement ; les stolons ainsi formés sont d'un rouge plus foncé, ont les nœuds plus rapprochés et portent souvent entre les feuilles des rudiments de racines adventives. Cependant, cette partie de la plante diffère peu de la tige, et dans les échantillons commerciaux, elle est toujours mêlée à la racine.

Les feuilles sont glabres, opposées, ovales ou lancéolées, entières, longues de 4 à 5 cm., larges de 10 à 20 mm. Elles sont trinervées et, tandis que les 2 nervures latérales se terminent en de fines ramifications, la médiane reste indivise jusqu'au sommet. Il existe quelquefois 2 autres nervures peu apparentes et courant le long des bords. Les feuilles inférieures diffèrent quelque peu des autres, par leur base atténuée en un court pétiole.

Les fleurs, parfois blanches, mais le plus souvent d'un rose pâle ou violacé, exhalent un parfum subtil et discret. Brièvement pédonculées et disposées en cymes corymbiformes terminales, elles sont caractérisées par un calice gamosépale à 5 dents courtes et pointues, glabre et sillonné de 15 à 20 nervures.

Les 5 pétales de la corolle sont entiers, parfois un peu échan-
crés et pourvus à leur base de 2 languettes.

Les étamines, au nombre de 10, sont disposées sur 2 verticilles concentriques, les étamines externes alternant avec les pétales, les étamines internes avec les sépales. Les anthères sont biloculaires à déhiscence extrorse.

Le pistil se compose de 2 carpelles soudés par leur base en un ovaire composé, mais formant par leur partie postérieure 2 styles distincts. Une section dans l'ovaire très jeune, montre 2 loges séparées à placentation axile, mais pendant la transformation de l'ovaire en fruit, les cloisons se résorbent ; le placenta reste isolé au milieu du fruit et il semble que la placentation soit centrale.

L'ovaire supère et surmonté de 2 styles à stigmates papilleux contient, dans chaque loge, de très nombreux ovules campylo-tropes et à 2 téguments.

Le fruit est une capsule ovoïde, uniloculaire, à fausse placentation centrale, s'ouvrant par 4 dents courtes, enroulées en dehors. La graine, très dure, à téguments noirâtres, renferme un albumen amylicé entouré par un embryon courbe.

Le système racinaire, volumineux, comprend un ensemble de grosses racines et de rhizomes traçants. Ces organes souterrains s'enfoncent profondément dans le sol et forment un réseau volumineux d'où partiront chaque année de nouvelles pousses de saponaire (drageons). Cet ensemble souterrain est tellement considérable, que NETIEN [53] a pu extraire près de 6 kilogs de ce système racinaire, sur une surface de terrain n'excédant pas 3 m².

IV. — Caractères anatomiques.

Pour compléter cette étude de la saponaire, nous nous devons de dire quelques mots sur l'anatomie des différents organes de cette plante.

La tige montre un épiderme constitué par des cellules à

cuticule striée et garni de poils tecteurs épais et courts. Cinq à six assises de fibres de moins en moins sclérifiées entourent le liber et le bois qui forment un anneau continu. La moelle est cellulosique. Pas d'oxalate de calcium dans ces différents tissus.

Les feuilles sont caractérisées par un épiderme glabre, formé de larges cellules polygonales, à parois faiblement ondulées et revêtues d'une cuticule légèrement striée. Le mésophylle hétérogène et asymétrique est constitué par une assise supérieure de cellules en palissade et une assise inférieure de cellules rameuses contenant des cristaux d'oxalate de calcium en étoile. La nervure médiane concavo-convexe se présente sous la forme d'un cordon ligneux que recouvre le liber et un péricycle mou. Il faut noter, sur les deux faces de la feuille, la présence de stomates réniformes disposés soit perpendiculairement à la cloison de séparation de deux cellules contiguës, soit au point de jonction de trois cellules voisines.

La section de la racine montre, dans l'ordre de l'extérieur vers l'intérieur : le suber, le parenchyme cortical blanc, le liber brun jaunâtre et, enfin, la zone ligneuse différenciée par sa couleur jaune, ses stries radiales et une multitude de pores visibles à la loupe. Les stolons se distinguent des racines par la présence d'une moelle.

Une coupe transversale permet de distinguer les caractères anatomiques de ces différentes parties, à savoir :

Un suber à cellules aplaties et coloré en brun dans ses assises les plus externes ; un parenchyme cortical à cellules polyédriques, ne contenant pas d'amidon, mais des cristaux étoilés d'oxalate de calcium ; un liber à cellules disposées en files radiales. Le bois, chez les jeunes racines, est constitué par des cellules à parois peu épaissies ; avec l'âge, le tissu ligneux se scinde en plusieurs couches concentriques dont le nombre varie avec celui des années. En outre, on peut distinguer un grand nombre de vaisseaux à diamètres variables et généralement isolés. Enfin, la moelle, qui d'ailleurs manque souvent, montre des cellules arrondies, renfermant des cristaux d'oxalate de calcium.

V. — Localisation de la saponine.

De nombreuses méthodes de localisation microchimique de la saponine ont été données.

Ce sont d'abord les méthodes de réactions colorées. Citons, pour mémoire, les réactions de ROSOLL (coloration violette avec l'acide sulfurique concentré) ; de HANAUSECK ($\text{SO}^4 \text{H}^2$ et alcool à 96° à parties égales : coloration violette, l'addition de sulfate ferreux en solution diluée provoquant l'apparition d'un précipité brunâtre ou gris bleu) ; de MECHECH (coloration rouge avec l'acide sélénieux en solution sulfurique) ; de KOBERT (coloration bleue avec le perchlorure de fer en solution diluée dans $\text{SO}^4 \text{H}^2$ alcoolisé) ; de SAGEL (coloration d'abord rouge, puis violette et enfin bleue avec un mélange d'anhydride acétique et d'acide sulfurique) ; de NIETHAMMER (coloration rouge avec le réactif au tétrarhodanato-diamino-chromi-ammonium ou sel de REINECKE) ; de MITCHELL (coloration rouge avec un nitrate en solution sulfurique). Mais, d'une manière générale, ces méthodes ont le grave inconvénient de manquer de spécificité.

C'est pourquoi les auteurs ont orienté leurs recherches sur les méthodes par précipitation, qui tendent à englober la saponine en un complexe précipitant à l'intérieur de la cellule, sous forme de cristaux que l'on examine. L'obtention de ce complexe se fera soit par l'eau de baryte ; soit par l'acétate de plomb (KOBERT [31]) ; soit par la magnésie (GREENE [27]). COMBES [14] a augmenté la spécificité de ces méthodes, une première fois en dissociant le complexe obtenu avec l'acétate de plomb, à l'aide d'acide sulfurique qui a pour effet de précipiter le plomb à l'état de sulfate et de colorer en rouge la saponine ainsi libérée ; mais une seconde modification de COMBES consiste à décomposer la combinaison barytique obtenue avec l'eau de baryte, par l'emploi d'une solution de

bichromate de potassium au 1/10^e, solution qui précipite le baryum à l'état de chromate de baryum insoluble et jaune.

Cette dernière méthode a été légèrement modifiée par CONRARD [16] ; cet auteur, par addition complémentaire d'une solution de nitrate d'argent au 1/100^e, obtient de petites tablettes de chromate d'argent, indiquant la répartition de la saponine.

C'est à l'Ecole allemande que l'on doit l'utilisation des propriétés hémolytiques des saponines, par la technique de la gélatine au sang, pour la détection micrographique de la saponine. La méthode consiste à disposer une coupe assez épaisse de saponaire dans une goutte de sang gélatiné et à observer l'hémolyse, qui se traduit par un anneau entourant la coupe. La vitesse de formation de l'anneau et son intensité donneront ainsi des indications sur la richesse en saponines de la drogue.

Mais, l'expérience a montré que certaines drogues contenaient des substances hémolytiques n'appartenant pas au groupe des saponines. C'est pourquoi FISCHER [20-21] a perfectionné cette méthode en la rendant spécifique. L'amélioration consiste à plonger d'abord la coupe dans une solution chaude éthéro-alcoolique de cholestérine. La saponine est ainsi transformée en un complexe cholestérine-saponine non hémolytique. Si donc, l'hémolyse est due à la saponine, il n'y aura pas d'anneau, lors de l'épreuve de la gélatine au sang. Mais, d'autre part, la simple addition de xylol aura pour effet de libérer la saponine et par suite de provoquer l'apparition du halo hémolytique.

Cette méthode biochimique s'est révélée comme une excellente méthode de détection de saponines, mais pour une localisation précise, la méthode COMBES - CONRARD devra être préférée.

C'est d'ailleurs, par l'emploi simultané de ces deux méthodes que NETIEN [53] a étudié, après COMBES et FISCHER, la localisation de la saponine dans la saponaire et les variations de ce glucoside au cours de l'année végétative. Voici, brièvement résumés, les résultats de cet auteur :

1^o) *Racines et rhizomes* : De janvier en mars, on observe une répartition de la saponine dans tous les tissus avec localisation particulière pour les rhizomes dans les zones les plus internes du phelloderme. En avril et mai, pas de changement pour les racines et condensation plus nette pour les rhizomes dans les tissus libéro-ligneux et la moelle. En juin, pas de changement pour le rhizome ; localisation plus marquée pour la racine dans l'éccrce et le suber. En juillet, diminution considérable chez ces deux organes, suivie d'une augmentation importante en août. Cet enrichissement en saponine est notable dans tous les tissus, mais avec une particularité marquée dans la zone corticale et les rayons médullaires. Durant la période automnale, il n'y a pas de localisation particulière, tous les tissus contiennent de la saponine.

2^o) *Tige* : La jeune tige montre des localisations particulièrement importantes dans l'épiderme et la moelle en mars, dans les tissus corticaux en avril, dans le phelloderme et les tissus épidermiques en mai, autour du parenchyme péricyclique en juin, dans les épidermes et parenchymes corticaux en juillet. Dès ce moment, on assiste à la disparition de la saponine de tous les tissus, sauf toutefois dans les parties les plus externes qui en contiennent quelque peu en août, et plus du tout durant la période automnale.

3^o) *Feuilles* : Dans les feuilles la saponine est rare et seulement localisée dans les nervures principales de la jeune feuille de mars, puis elle augmente et s'étend dans les tissus palissadiques en avril. En mai, elle émigre des régions internes dans les collenchymes et les cellules stomatiques des épidermes, pour se répartir dans tous les tissus en juin, avec localisation plus marquée dans les poils tecteurs en juillet. Le mois d'août et la période automnale amènent la disparition à peu près totale du glucoside.

4^o) *Fleurs* : Localisation abondante dans la région épidermique de la corolle et absence dans le calice et les carpelles.

5^o) *Fruits* : Si la capsule ne contient pas de saponine dans ses parois, par contre tous les tissus de la graine en renferment une importante quantité ; avec la maturité de la graine, le glucoside se condense dans l'embryon.

VI. — Parties utilisées.

1^o) *Racines et rhizomes* : On utilise tout le système souterrain, recueilli de l'automne au printemps, et comprenant à la fois les racines proprement dites, les stolons et les rhizomes.

Les échantillons commerciaux se présentent sous la forme de petits fragments longs de 10 cm. environ, de 4 à 6 mm. de diamètre, d'un gris brun rougeâtre, plus foncé chez les racines que chez les rhizomes, ridés longitudinalement, à écorce facile à séparer du bois. L'examen plus attentif des lots permet souvent de déceler la présence de stolons, reconnaissables grâce à leurs nodosités circulaires portant deux bourgeons opposés, leurs cicatrices de tiges aériennes et leurs racines adventives.

Ces fragments sont doués d'une odeur faible et d'une saveur mucilagineuse douceâtre d'abord, âcre ensuite.

Quelques falsifications grossières ont été dénoncées ; mais elles ne sauraient être confondues avec la racine de saponaire. Citons *Gypsophila struthium* L. (saponaire d'Egypte), *Gypsophila Arrostii* Gussone (saponaire d'Espagne), *Gypsophila paniculata* L. (saponaire d'Orient), *Lychnis dioica* L.

2^o) *Feuilles* : Elles sont récoltées en juin avant la floraison. D'odeur nulle, elles sont douées d'une saveur âpre et amère.

3^o) *Sommités fleuries* : Elles ne sont pas officinales, mais sont souvent utilisées dans la vie domestique.

CHAPITRE DEUXIÈME

ÉTUDE CHIMIQUE

I. — Généralités.

Si le pouvoir aphrogène de la saponaire est connu depuis les temps les plus reculés, par contre les recherches analytiques sur les principes actifs de cette drogue sont relativement récentes.

Sans doute, BOERHAVE [10], en 1732, avait écrit dans son « *Onomatologia Botanica completa* » que le suc de saponaire est mousseux, soluble dans l'eau, qu'il jouit de propriétés résolutives ; et BERGIUS [8], en 1778, avait noté la persistance de cette mousse.

Mais il faut arriver à BRACONNOT [12], en 1817, pour avoir le premier essai d'analyse. Cet auteur opère sur des échantillons de saponaire, cueillis vers la fin de la floraison, à l'aide desquels il prépare un extrait aqueux ; celui-ci donne à l'analyse :

a) Une combinaison de matières savonneuses et de chaux, insoluble dans une petite quantité d'eau.

b) Un produit savonneux soluble dans l'eau et l'alcool faible, précipitant abondamment par le tannin et le chlore.

c) Un sel déliquescent à base de potasse, combiné au principe précédent.

d) Une matière ne rendant pas l'eau mousseuse et susceptible d'être précipitée par le tannin et l'acétate de plomb.

e) Une matière blanche, végétale, peu connue.

f) Enfin, par distillation de la substance savonneuse, BRACNOT note la formation d'ammoniaque, ce qui tend à faire admettre la présence d'un principe azoté.

En 1819, GMELIN [23], pour la première fois, désigne sous le terme de saponine, le principe qui communique à la saponaire sa propriété de mousser. Ce terme, qui a ainsi fait ses débuts. dans le « Manuel de Chimie théorique », était appelé à prendre par la suite une extension considérable.

En 1850, BUCHOLTZ [13] analyse la racine de saponaire et donne les résultats suivants exprimés en % :

Matière mousseuse soluble dans l'eau et l'alcool.	34
Résine brute et molle	0,25
Gomme soluble dans l'eau	33
Fibres ligneuses	22,25
Apothème d'extrait	0,25
Eau	13
	102,75

L'excès d'analyse est de 2,75 %. Pour plus de clarté, nous devons noter que les apothèmes sont constitués principalement par des hydrates de carbone plus ou moins altérés.

En 1875, CHRISTOPHSON [17] fixe la teneur en saponine de la racine de saponaire à 5,75 %.

En 1882, LOQUE [47] précise que la coloration rouge de la base de la tige est due à une matière colorante répartie dans certaines cellules de l'épiderme et cristallisant dans l'alcool. La coloration est d'autant plus intense que ces cellules sont plus abondantes.

En 1883, SCHIAPARELLI [61] donne les résultats suivants :

Résine ... 8,25 %

Gomme .. 33 %

Ces chiffres sont ceux parfois encore mentionnés dans quelques manuels relativement récents.

En 1904, BARGER [6] isole de la saponaire, la *saponarine*, substance qu'il fait cristalliser dans un mélange d'eau et de pyridine, sous forme de fines aiguilles. Cette saponarine (qui avait déjà été isolée d'un certain nombre de plantes, sous le nom d'amidon soluble), est insoluble dans l'eau et les solvants organiques, mais soluble dans les alcalis dilués et la pyridine. Son point de fusion est 231°. Avec les alcalis, elle donne une coloration jaune. Si on ajoute alors un acide, la substance reste en pseudo-solution et l'on obtient une coloration bleue ou violette, s'exaltant en présence d'iode dissous à l'aide d'iodure de potassium.

Cette saponarine, très hygroscopique, est hydrolysée par les acides minéraux avec formation de glucose et d'une huile épaisse : la saponarétine, corps peu soluble dans l'eau, soluble dans les alcalis et la pyridine, ne donnant pas de coloration avec l'iode. Par action de la potasse, cette saponarétine donne naissance, d'une part à de l'acide paraoxybenzoïque et, d'autre part, à une solution présentant tous les caractères de la phloroglucine, sans que cependant cette dernière ait pu être isolée.

Suivant BARGER, la formule de la saponarine serait, soit $C^{19}H^{22}O^{11}$, soit $C^{21}H^{24}O^{12}$.

Mais tous ces travaux que nous venons d'énumérer ne constituent qu'un prélude aux résultats, nettement plus importants, de MASSON [49] d'abord, de NETIEN [53] ensuite.

TRAVAUX DE MASSON.

En 1910, MASSON, dans sa thèse de doctorat en Pharmacie, établit comme suit le tableau d'une analyse de 1.000 g. de racines de saponaire, choisies, séchées et convenablement divisées :

PRINCIPES EXTRACTIFS : Dans 1.000 g. de racine de saponaire officinale sèche :

Huile fixe soluble dans l'alcool absolu	1,85 g.
Matières grasses insolubles	1,25
Hydrates de carbone bruts	94
Saponines	19
Acide saponique	3,50
Acide saponétique	2,25
Sucres réducteurs	28
Matière gommeuse colorée	26
Matière albuminoïde colorée	9
Cendres (sels solubles calcinés)	19
(Par différence) matières colorantes et pertes	176,15
Total	380 g.

L'auteur complète ce tableau par l'étude systématique des corps ainsi trouvés.

1^o) *Hydrates de carbone* : Se présentent, après purification, sous la forme d'une substance amorphe, blanche, soluble dans l'eau et l'alcool à un titre inférieur à 65°, insoluble dans l'alcool fort et l'éther. En solution aqueuse à 4 % et à t° = 15°, le pouvoir rotatoire est égal à + 152°5.

Ces hydrates de carbone ne réduisent pas la liqueur de Fehling, ne précipitent ni par la baryte, ni par la chaux, ni par l'acétate de plomb, ni par le tannin. Ils sont facilement hydrolysés à l'ébullition par les acides minéraux en donnant un sucre réducteur dextrogyre.

Par oxydation à l'aide d'acide nitrique, il y a formation d'acide mucique. Selon l'auteur, ces hydrates de carbone devraient être envisagés comme étant constitués par un galactane soluble dans l'alcool à 65°.

2°) *Acide saponique* : Après purification, l'acide saponique est obtenu sous la forme d'un corps amorphe rouge vif, insoluble dans l'éther éthylique et dans l'eau, soluble dans l'alcool anhydre, l'éther acétique et les solutions alcalines. L'hydrolyse par l'acide sulfurique fournit 28 % d'un sucre réducteur et un corps acide rouge foncé, insoluble dans l'alcool anhydre.

Les saponates alcalins sont rouge brique, solubles dans l'eau, insolubles dans l'éther, l'alcool absolu et jouissent de propriétés émulsives et aphrogènes ; les saponates de baryum, calcium, magnésium sont insolubles et peuvent être préparés à partir du saponate d'ammonium.

3°) *Acide saponétique* : Substance amorphe, verdâtre, insoluble dans l'eau, très soluble dans l'alcool absolu et les solutions alcalines, se combinant au tannin, donnant avec l'albumine un complexe insoluble, même dans l'alcool bouillant.

Les saponétates alcalins sont jaune verdâtre, solubles dans l'eau et l'alcool absolu, insolubles dans l'éther ; les saponétates de baryum, calcium, magnésium, plomb sont insolubles dans ces solvants.

4°) *Sucres réducteurs* : Constitués par du glucose et du levulose.

5°) *Matières gommeuses* : Ce ne sont pas des gommés proprement dites, mais des galactanes insolubles dans l'alcool à 65° ; de P. R. = + 148°, précipitant par l'eau de baryte et le tannin, et également avec le saccharate de chaux et l'acétate basique de plomb.

6^o) *Saponines* : Pour ne pas alourdir l'exposé, nous renvoyons cette étude à un chapitre spécial qui complétera les observations de MASSON, par les publications faites jusqu'à nos jours.

TRAVAUX DE NETIEN.

Le travaux de NETIEN datent de 1925, et portent uniquement sur les glucides et les saponines de quelques Caryophyllacées et, en particulier, de la saponaire.

Suivant cet auteur, le bloc glucidique de cette plante serait constitué par du glucose, du saccharose, et enfin de la lactosine, polyholoside correspondant aux hydrates de carbone isolés par MASSON.

Le glucose est identifié par son osazone, le saccharose, extrait par la méthode de TANRET à la baryte. Quant à la lactosine, elle est isolée grâce à sa propriété de donner avec la baryte une combinaison soluble dans l'eau et insoluble dans l'alcool fort, propriété qui permet l'élimination des saponines.

La lactosine fut obtenue pour la première fois en 1884, à partir de *Melandrium album* par MEYER [50 bis], qui l'assimilait à la dextrine et qui, après l'avoir retrouvée dans un certain nombre de Caryophyllacées, suggérait que sa présence devait être constante dans cette famille.

La lactosine est une poudre blanche, amorphe, très hygroscopique, de formule $(C H^2 O)^{17}$ ou $C^{17} H^{34} O^{17}$ de P. R. + 168^o2, soluble dans l'eau, l'alcool faible, légèrement soluble dans l'alcool à 80^o, insoluble dans l'alcool à 90^o.

Elle est soluble dans l'alcool à 85^o bouillant, mais dépose par refroidissement.

La solution dans l'alcool à 50^o précipite par l'extrait de Saturne, l'eau de chaux, l'eau de baryte.

La solution aqueuse ne précipite pas par ces réactifs, mais précipite par l'ammoniaque.

L'invertine, l'émulsine, la poudre d'*Aspergillus niger* sont incapables de provoquer l'hydrolyse de ce triholoside ; il faudra recourir à la diastase contenue dans la racine de saponaire ou encore au suc digestif d'escargot (actif sur les galactanes) et surtout aux acides minéraux, pour provoquer l'hydrolyse. Celle-ci donne, non du lactose, comme le pensait MEYER [50 bis], mais du glucose, du galactose et un pentose à faible pouvoir rotatoire (sans doute du xylose).

La lactosine est un hydrate de carbone qui joue le rôle de matière de réserve, s'accumulant dans les organes souterrains dès la fin de la floraison. C'est pourquoi la teneur maxima sera atteinte en octobre, avec 7,18 % pour le rhizome et 7,17 % pour la racine. Quant à la teneur de la tige, son maximum est atteint en août avec 1,90 % et, fait caractéristique, NETIEN n'a jamais pu, à aucune époque de l'année, décélérer la moindre trace de lactosine dans les feuilles.

Cet auteur, après avoir étudié les variations de la teneur en sucres réducteurs, saccharose et amidon, chez les différents organes de la plante, complète son exposé par un compte rendu des variations de la saponine au cours de l'année végétative, et arrive ainsi aux conclusions suivantes :

« La saponine est en abondance dans les organes souterrains durant l'hiver... Pendant toute la période de croissance de la plante, la saponine ne varie pas dans les organes souterrains, mais dès la fin de la floraison, après avoir marqué un minimum, elle redevient constante dans les rhizomes et les racines.

« Les tiges contiennent de la saponine avec accroissement graduel au fur et à mesure de la floraison et une baisse durant la fructification.

« Les feuilles marquent une grosse quantité de saponine au moment de la floraison et une baisse durant la fructification.

« L'hypothèse de la théorie de la formation de la saponine dans les feuilles peut se justifier en partie par l'abondance spéciale au moment de la floraison.

« Les fleurs contiennent beaucoup plus de saponine que les tiges et les feuilles, et il semble que nous assistons à une condensation de saponine dans cet organe.

La graine renferme peu de saponine, mais au fur et à mesure de son développement, elle subit une augmentation graduelle jusqu'à la maturité.

Selon NETIEN : « Les saponines chez les Caryophyllacées doivent être considérées comme des substances résultant de la dégradation d'une molécule plus complexe, réserves spéciales utilisées à des moments déterminés dans la plante (floraison, stade germinatif). »

La saponaire doit son activité principalement à la saponine. Aussi, avons-nous jugé primordial de consacrer un paragraphe spécial à l'étude de ce glucoside.

II. — Étude particulière de la saponine de saponaire ou saporubrine.

La saponine de saponaire ou *saporubrine* est extraite des organes souterrains de la plante, par traitement au moyen de l'alcool à 90° bouillant. Le liquide filtré à chaud abandonne, par refroidissement, la saponine brute. Après lavage à l'éther on la dessèche et on la dissout dans la plus petite quantité d'eau possible. On la précipite de ce milieu par un excès d'eau de baryte. La combinaison barytique est ensuite décomposée au sein de l'eau par un courant de gaz carbonique ; la saponine ainsi libérée passe en solution. On filtre et on évapore le liquide à siccité. Le résidu est dissout dans l'alcool et précipité par l'éther. (LEBEAU et COURTOIS [20].)

On obtient ainsi une poudre blanche, amorphe, hygroscopique, de formule $C^{32}H^{54}O^{18}$ suivant ROCHLEDER [59] et $C^{17}H^{26}O^{10} + OH^2$ suivant KRUSKAL [42].

Ce glucoside aurait comme squelette fondamental celui du cyclopenténo-phénantrène, commun suivant M.-D. VAN OS [67 bis], aux acides biliaires, aux stérides, aux saponines neutres et à un certain nombre de poisons cardiaques, hormones et vitamines.

La saporubrine donne avec l'eau des pseudo-solutions ; elle est soluble à froid dans l'alcool éthylique dilué, à chaud dans l'alcool à 90° en déposant par refroidissement ; peu soluble dans l'alcool fort à froid et l'acétone, elle est insoluble dans l'éther, l'éther de pétrole, le sulfure de carbone, le benzène, le chloroforme.

Ses solutions aqueuses sont très difficilement dialysables, et l'on a quelquefois recours à l'électrodialyse pour purifier la saponine.

Le pouvoir rotatoire est de $-5^{\circ}44$, suivant SCHULTZ, [62] et $+33^{\circ}$, suivant MASSON [49]. La saporubrine jouit de propriétés sternutatoires, aphrogènes et hémolytiques.

D'après BALANSARD [5], les solutions aqueuses précipitent par la baryte et la chaux et restent limpides par addition d'acétate de cuivre, d'acétate de plomb, de sous-acétate de plomb, de tannin.

Les auteurs ont donné un grand nombre de réactions colorées, dont quelques-unes ont été utilisées pour la localisation micrographique, mais elles ont l'inconvénient de manquer, pour la plupart, de spécificité. Citons-en quelques-unes pour mémoire :

1°) L'acide sulfurique donne, avec les saponines en général et la saporubrine en particulier, une coloration jaune, puis rouge, puis bleu-vert ou vert-violet (ROBERT).

2°) Colorations identiques avec un mélange d'acide sulfurique et d'alcool à 96°.

3°) Quelques gouttes d'une solution au 1/20^e d'acide sélénieux dans l'acide sulfurique donnent avec les saponines une coloration rouge. (MECHESH).

4°) Si à quelques centimètres cubes d'une solution de saponine on ajoute avec précaution quelques gouttes d'anhydride acétique additionné d'acide sulfurique, il se forme à la zone de séparation un anneau rouge passant au violet, puis au bleu.

5°) En présence d'acide sulfurique et d'un nitrate on assiste à l'apparition d'une teinte rouge et cette coloration pourra servir soit pour le dosage de la saponine, soit pour celui du nitrate. (MITCHELL).

6°) Un mélange d'acide sulfurique et de sucre communiqué à une solution de saponine une coloration rouge.

7°) Par addition d'un mélange d'alcool et d'acide sulfurique aiguisé d'une goutte de sulfate ferreux en solution, la saponine se colore en bleu-vert. (HANAUSECK).

8°) Avec une solution sulfurique de chlorure ferrique, coloration rouge. (KOBERT).

9°) Le réactif de NESSLER donne un précipité gris, puis verdâtre. Par ébullition suivie de refroidissement, le précipité passe au jaune, puis au jaune orangé, et enfin au bleu-noir, tandis que la liqueur se colore en rouge.

10°) Avec le réactif de MILLON, apparition d'une teinte rouge. (HOFFMANN).

11°) En présence de tétrarhodanoto-diamino-chromi-ammonium ou sel de REINECK, une solution de saponine prend une coloration rouge. (NIETHAMMER).

12°) La vanilline, en solution chlorhydrique, donne une coloration rouge lilas à la température ordinaire et s'exaltant par un léger chauffage. (ROSENTHALLER).

A côté de ces réactions de coloration, rappelons la formation de complexes par les saponines avec le cholestérol et les léci-thines.

La saporubrine, en tant que glucoside, sera capable de subir l'hydrolyse. Ce phénomène sera provoqué par chauffage soit au bain-marie pendant plusieurs jours, soit à l'autoclave à 110° pendant plusieurs heures, d'une solution de saponine contenant 10 % d'acide sulfurique. La scission de la molécule de saporubrine comporterait deux phases ; il y aurait d'abord formation de *prosapogénine* renfermant un reste glycuronique et un sucre ; l'hydrolyse se poursuivant, la *prosapogénine* se désagrègerait en *sapogénine* et glucose. Cette *sapogénine* se présente, après filtration et lavages, sous la forme d'une gelée floconneuse. Celle-ci desséchée, reprise par l'alcool absolu et soumise

à l'évaporation lente, donne naissance, suivant MASSON [49], à des écailles blanches, cristallines, à réaction acide, insolubles dans l'éther, solubles dans les solutions alcalines.

La sapogénine, connue aussi sous le nom d'*acide sapogénique*, est susceptible de fournir des sapogénates et entre autres des sapogénates alcalins blancs, solubles dans l'eau, insolubles dans l'alcool et l'éther ; les sapogénates de baryum, plomb, calcium sont insolubles dans l'eau.

De récents travaux et en particulier ceux de A. WINDAUS, F. HUMPE et M. RABE [72] d'une part, et E. WEDERING et W. SCHIKE [71] d'autre part, tendent à envisager les sapogénines comme des corps à molécule renfermant un cycle lactonique et une ou deux fonctions hydroxydes ; par saponification alcaline, il y aurait ouverture de la fonction lactone et formation de dérivés monovalents. Ces sapogénines seraient solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, l'acide acétique ; insolubles dans l'eau, les carbonates alcalins et les alcalis caustiques.

De nombreuses méthodes de dosage de la saporubrine ont été proposées. Rappelons pour mémoire les dosages pondéraux à l'état de complexes barytiques (KOBERT) [32], magnésien (KRUSKAL) [43], plombique (KOBERT) [34].

D'autres méthodes s'appuient sur l'hydrolyse du glucoside et on pourra alors doser soit la sapogénine, soit le glucose. La première école représentée, en particulier par Mlle KORSKOFF [41] (1913) et MOYKO [52], après avoir isolé la saporubrine à l'état brut de la saponaire, la soumettra à l'hydrolyse et, du poids de la sapogénine, déduira la teneur de la drogue en saponine. Malheureusement les auteurs ne sont pas d'accord sur le pourcentage de sapogénine résultant de l'hydrolyse. Ce pourcentage est de 32,1 % suivant SCHULTZ [62], de 34 % suivant MASSON [49], de 35,90 % suivant CHRISTOPHSON, de 54,14 % suivant SCHIAPARELLI [61].

La seconde école, représentée par VAN DER HAAR, KARRER et surtout par ULZER et KAAS [66], dose le sucre résultant de l'hydrolyse du glucoside. ULZER et KAAS déduisent de leurs travaux une constante, le « nombre saccharin », qui n'est autre chose que le « nombre de grammes de glucose équivalent au

pouvoir réducteur de la composante sucre obtenue sur 100 g. de saponine ». La saporubrine aurait ainsi un « nombre saccharin » équivalent à 58,9.

D'une manière générale, toutes les méthodes chimiques que nous venons d'énumérer sont assez peu précises et les résultats obtenus varient avec les auteurs. Aussi, deux autres méthodes, mais biologiques cette fois, ont été préconisées. La première repose sur le pouvoir aphrogène, la seconde sur le pouvoir hémolytique. C'est pourquoi, dans les paragraphes qui suivent, nous nous proposons d'étudier d'une manière particulière ces deux propriétés capitales de la saporubrine.

POUVOIR APHROGÈNE.

Le pouvoir aphrogène des saponines en général et de la saporubrine en particulier, repose sur la propriété de ces glucosides d'abaisser la tension superficielle ; ce pouvoir aphrogène se traduira par l'apparition de mousse, lorsqu'on soumettra une solution de saponine à l'agitation.

STORTENBEKER [64] a constaté que la formation de cette mousse avait pour effet de diminuer la teneur en saponine du liquide restant, autrement dit que la mousse s'enrichissait aux dépens de la solution. L'appareil de démonstration était constitué par un tube en U relié à un aspirateur ; l'auteur introduisait dans le tube un petit volume de solution de saponine, qu'il soumettait à l'action d'un courant d'air ; la mousse, recueillie par aspiration, se résorbait en un liquide qui, comparé par hémolyse à la solution primitive, s'avérait plus riche en saponine. Il est d'ailleurs à noter que ce procédé a été utilisé pour l'isolement de quelques saponines.

A concentration égale, la saponine a sur le savon l'avantage de produire une plus grande diminution de tension superficielle et une mousse plus résistante ; de plus, cette résistance au lieu d'être augmentée par l'addition de glycérine, comme c'est le cas pour le savon, est au contraire affaiblie.

Afin de pouvoir apprécier avec précision le pouvoir aphrogène des différentes drogues à saponines, KOFLER [35] a introduit dans cette étude la notion de chiffre ou indice mousse, que l'on peut définir : « *Le degré de dilution pour lequel on obtient une colonne de mousse de 1 cm. de haut, par agitation de 15'' dans un tube de 16 mm. de diamètre intérieur et après un repos de 15 minutes.* »

La pharmacopée allemande détermine cet indice en introduisant dans une série de tubes, des quantités de décocté à 1 % de la drogue, croissant suivant la progression : 1 cc., 2 cc., 3 cc... 10 cc. On complète ensuite à 10 cc. avec de l'eau distillée et, après agitation suivie de repos, on note le tube pour lequel la colonne de mousse atteint 1 cm. Sa dilution représente le chiffre mousse.

Ce chiffre mousse variera non seulement d'une saponine à l'autre, mais aussi avec de nombreux facteurs. D'une manière générale, suivant KOFLER [34], tout élément, capable de modifier la tension superficielle d'une solution de saponine, modifiera du même coup le chiffre mousse. KOFLER cite le cas de l'acide isobutyrique, qui tensioactif à l'état libre, ne l'est plus à l'état combiné ; cet acide isobutyrique, par sa seule présence, aura pour effet de diminuer la stabilité de la mousse ; mais si l'on a soin de neutraliser cet acide, on rétablira en même temps la stabilité primitive.

Citons parmi les facteurs capables de modifier le chiffre mousse : l'alcool, le brome, la baryte, les alcalis, les électrolytes, le lait, l'éther.

L'influence de l'alcool a été particulièrement étudiée par OVERTON [54]. D'après cet auteur, l'addition d'alcool à une solution ou plutôt à une pseudo-solution aqueuse de saponine, aurait comme conséquence de transformer la pseudo-solution hétérogène en solution vraie.

De là il s'ensuit une diminution de l'épaisseur et de la résistance de la mousse.

Dans une première série d'expériences, OVERTON a mis en évidence les variations que subit la mousse d'une solution de cyclamine par addition d'alcool anhydre.

Cette cyclamine diluée au 1/1.000^e et additionnée d'alcool dans les proportions de 5 cc. pour 1 cc. 5 d'alcool, donne une mousse disparaissant en 1 minute.

Dans les mêmes conditions, mais avec une quantité d'alcool de 1 cc. 75, le temps nécessaire pour la disparition de la mousse n'est plus que de quelques secondes.

OVERTON a également étudié l'action de l'alcool sur la saponine de MERCK. Il a constaté que 5 cc. d'une solution de saponine additionnés de 1 cc. 5 d'alcool, donnent une mousse de 8 mm. d'épaisseur, après un repos de 5 minutes.

Avec un volume de 1 cc. 75, mousse peu importante disparaissant en 2 minutes.

Si le volume est porté à 2 cc., la mousse se résorbe presque instantanément.

SIEBURG et BACHMANN [63] ont déterminé l'influence du brome et de la baryte sur le pouvoir aphrogène. Comme pour l'alcool, on assiste à des variations, d'une part avec la nature de la saponine, d'autre part avec la concentration.

C'est ainsi que le brome, qui abaisse le chiffre mousse des saponines de QUILLAJA, de MERCK et de GAIAC, a peu d'influence sur celui de la cyclamine ; bien plus, il modifie d'abord défavorablement jusqu'à la concentration de 1/5.000^e le chiffre mousse de la digitonine ; au delà de cette concentration, l'influence du brome s'avère favorable.

Quant à la baryte, elle a une action faible sur les saponines de MERCK, de GAIAC, sur la digitonine, la cyclamine et une action négligeable sur la saponine de QUILLAJA.

Mais à côté de ces substances qui ont la propriété de diminuer le chiffre mousse, il en est d'autres capables, au contraire, de l'exalter.

Mlle BERTHIER [9] a montré que la présence d'électrolytes stimule le pouvoir tensioactif des saponines et ceci d'autant plus que le cation a une valence plus faible.

De ces observations il résulte que de nombreux facteurs sont capables d'influencer le chiffre mousse d'une saponine en solution et même, dans certaines conditions, de l'annuler complètement.

Il semblerait tout au moins que ce chiffre mousse devrait être d'autant plus important que la teneur en saponine serait plus élevée. Or, SIEBURG et BACHMANN [63] ont montré que cette hypothèse n'avait rien d'absolu.

C'est ainsi que des solutions de cyclamine au 1/4.000^e et au 1/500^e ont même chiffre mousse et que la saponine de QUILLAJA au 1/2.000^e a un indice mousse un peu plus élevé que lorsque la dilution est de 1/500^e.

C'est pourquoi il semble excessif de vouloir déterminer la teneur en saponines des drogues à l'aide de leur chiffre mousse. Par contre, la mesure de ce chiffre mousse nous donnera de précieuses indications sur le pouvoir émulsif des drogues à saponines et, avec MM. ASTRUC et GIROUX [14], nous pensons que « c'est là une notion intéressante en Pharmacie ».

POUVOIR HÉMOLYTIQUE.

L'hémolyse, suivant DIACONO [19], est caractérisée par « la diffusion et la dissolution de l'hémoglobine dans le véhicule, au sein duquel on introduit les hématies ».

En dehors de l'eau distillée qui hémolyse les globules rouges, par suite de son hypotonie avec le sérum sanguin, de nombreux agents physiques et chimiques sont doués de propriétés hémolytiques en milieu isotonique. Nous ne ferons que citer : les acides, les alcalis, les alcools, éthers, aldéhydes, la bile, les sels biliaires, les savons, les hémolysines microbiennes, végétales (ricine, abrine, crotine, phalline) ou animales (venins de serpent, d'abeille, de guêpe), certains alcaloïdes (quinine, vératrine) et certains glucosides. C'est dans ce dernier groupe que nous trouverons les saponines, agents hémolytiques d'une très grande activité.

L'explication de l'hémolyse par les saponines varie avec les auteurs. Pour les uns, le globule rouge serait entouré d'une

membrane qui, sous l'influence de la saponine, deviendrait perméable à l'hémoglobine ; pour d'autres, la diffusion de l'hémoglobine résulterait de l'action des saponines sur les lipoides et, en particulier, sur le cholestérol, avec lequel les saponines forment des composés d'addition.

D'après BECHOLD [7], cette hémolyse serait due à la désagrégation du bloc des trois constituants des globules, à savoir : lecithine, protéine, cholestérine.

Et enfin, d'après MOND [51], la perméabilité de la membrane serait modifiée par suite de la destruction de la structure normale des colloïdes et ce serait la modification de ces colloïdes au point isoélectrique qui provoquerait le phénomène.

Quoi qu'il en soit, l'image de l'hémolyse par les saponines, telle qu'elle résulte de l'étude cinématographique faite par COMANDON, P. DE FONTBRUNE et WEILL [15], est la même que l'hémolyse par hypotonie.

On assiste au gonflement des hématies, sous l'action de la pression intérieure et à leur ouverture brusque en un point par lequel le contenu du globule s'échappe brusquement. Il y a ensuite diffusion lente de l'hémoglobine et décoloration graduelle du globule. Fait remarquable : même un examen attentif ne permet pas de déceler la moindre trace de déchirure sur le résidu globulaire.

Le pouvoir hémolytique varie considérablement d'une saponine à l'autre ; c'est pour apporter un peu de précision dans l'étude de ce pouvoir hémolytique, que les auteurs ont créé la notion d'*indice hémolytique* ou encore *index hémolytique*, que l'on a défini « *la dilution extrême pour laquelle la drogue à étudier détermine l'hémolyse totale.* »

La détermination de cet indice se fait, à la température du laboratoire (14°-18°), à l'aide d'un délayage à 2 % de sang défibriné dans du sérum physiologique. On répartit des quantités égales de cette émulsion dans une série de petits tubes et on ajoute des quantités croissantes d'un décocté préparé à l'aide de la drogue étudiée. On complète dans chaque tube à un même volume avec le sérum physiologique.

La lecture des résultats se fait après 12-20 heures. On note le premier tube dans lequel s'est produit l'hémolyse totale. La dilution de la drogue dans ce tube représente l'indice hémolytique.

Mais de nombreux facteurs interviendront dans l'évaluation de cet indice. Rappelons les principaux :

1^o) C'est d'abord le degré de division de la drogue. Les résultats varieront suivant que le décocté aura été préparé avec la drogue découpée ou pulvérisée, et, dans ce dernier cas, suivant le degré de finesse de la poudre. On aura intérêt, lors des recherches, à utiliser une poudre tamisée au tamis n^o 52 (poudre très fine), ou tout au moins aux tamis n^{os} 30 ou 37 (poudre fine).

2^o) C'est ensuite la préparation du décocté lui-même qu'il convient de considérer. Primitivement ce décocté se faisait au bain-marie bouillant, pendant une demi-heure, la concentration étant de 0,20 à 2 g. de poudre pour 100 cm³ d'eau distillée. Toutes les cinq minutes, on prenait la réaction du milieu à l'aide du papier tournesol et, si besoin, on neutralisait avec une solution à 1 % de carbonate de sodium.

La décoction terminée, on filtrait et on complétait au volume primitif avec de l'eau distillée.

Mais cette méthode offrait l'inconvénient, outre sa difficulté d'exécution, de ne pas donner des préparations uniformes par suite des variations de l'acidité du milieu au cours de l'ébullition. Or, les auteurs ont montré l'influence considérable exercée sur l'indice hémolytique par la concentration en ions hydrogènes et les résultats diffèrent suivant que le milieu est acide, neutre ou alcalin. D'où la nécessité de préparer ces décoctés à l'aide de sérum physiologique à 9⁰/₁₀₀ de chlorure de sodium, ce sérum étant « tamponné » grâce à des phosphates, à un pH fixe de 7,4, pH correspondant au sérum sanguin.

Il est à noter également que l'indice hémolytique variera selon que le décocté aura été préparé au bain-marie bouillant ou à feu nu. Dans ce dernier cas, l'indice est notablement plus faible. (NÉTIEN [53]).

3° La nature des hématies utilisées a également son importance. La résistance des globules rouges à l'hémolyse varie, en effet, avec l'espèce d'animal et même d'individu à individu. Selon RYWOSCH [60], cette résistance augmente dans l'ordre suivant : mouton, chèvre, bœuf, chat, souris grise, porc, rat gris, chien, rat blanc, lapin, cobaye. Mais KOFLER [34] a montré que ce classement n'avait rien d'absolu, et qu'il se modifiait suivant la saponine utilisée.

D'autre part, il n'est pas indifférent d'utiliser des globules rouges lavés ou non lavés. L'expérience établit, en effet, que le sérum a une action enrayante sur l'hémolyse, par suite de l'action de la saponine sur le cholestérol et autres composants du sérum sanguin.

De nombreux auteurs, et en particulier HÉDON [26 et 27], ont montré que le cholestérol formait, avec les saponines, des complexes non hémolytiques et non toxiques. D'ailleurs, l'observation clinique constate une augmentation de la résistance globulaire dans le cas d'hypercholestérolémie, alors, qu'au contraire, l'hypocholestérolémie est accompagnée de fragilité des hématies.

Pour remédier à ces inconvénients, il est indispensable d'abord d'opérer sur du sang lavé et ensuite de rapporter les valeurs obtenues à celle d'une saponine-test. WASICKY [70] a proposé la saponine purissimum album de MERCK et KOFLER, a fixé arbitrairement l'indice hémolytique de celle-ci à 25.000 vis-à-vis du sang de bœuf.

Par conséquent, la détermination de l'indice hémolytique comportera deux séries de tubes ; la première sera préparée avec le décocté ; la deuxième à l'aide d'une solution à 0,02 % de saponine de MERCK. L'indice obtenu pour le décocté sera corrigé par le facteur nécessaire pour ramener à 25.000 l'index hémolytique de la saponine pure de MERCK.

4°) Le pH du milieu exerce, lui aussi, une influence considérable sur l'hémolyse. En effet, JOLLY [30], dans son « traité technique d'hématologie », signale que les bases et les acides sont capables de provoquer l'hémolyse en solutions salées

isotoniques ; les acides forts agissent plus vite que les acides faibles et, d'autre part, l'hémolyse est plus accentuée aux concentrations faibles qu'aux concentrations fortes. Si les solutions sont trop fortement diluées pour provoquer l'hémolyse, on assiste cependant à une diminution de la résistance globulaire.

On conçoit, dans ces conditions, que l'indice hémolytique d'une saponine puisse varier fortement suivant le pH utilisé. WALBUM [62] a mis en évidence toute l'importance de ce facteur et a montré, en outre, que l'hémolyse était encore influencée par la nature du tampon utilisé.

Les travaux de cet auteur établissent, après une série d'expériences sur la résistance aux alcalis et aux acides des sangs de lapin, mouton, cheval, bœuf, que le début de l'hémolyse alcaline est localisé aux pH 8,16 - 8,54 tandis que le début de l'hémolyse acide s'effectue aux pH 6,3 - 5,2. De ces observations, il découle que l'intervalle compris entre 7,88 - 8,28 du côté alcalin, et 6,5 - 5,4 du côté acide, est en général exempt d'hémolyse.

D'autre part, l'allure de la courbe hémolytique variera suivant que le tampon utilisé sera constitué par des phosphates, du blanc d'œuf ou des peptones.

Ces travaux furent complétés par ceux de KOFLER et LAZAR [40], qui, opérant sur du sang de bœuf, arrivèrent ainsi à la notion de deux types de saponines.

Type I : Hémolyse minima entre 8,7 et 9,6 et ascendance bilatérale du côté acide et alcalin.

Type II : Effet hémolytique très faible à pH = 10,48 avant le début de l'hémolyse alcaline et ascendance très rapide du côté acide.

5°) Enfin, pour terminer cette étude des différents facteurs, capables d'influencer l'indice hémolytique, disons que certains corps non électrolytes, tels les sucres, exercent sur les globules rouges une action protectrice variable avec l'espèce de sang. Sur ce sujet, citons les travaux d'HANDOWSKY, PONDER et KENNEDY [56] et FUJIMORY.

Il va sans dire que la méthode hémolytique ne constitue pas une méthode de dosage des saponines. Outre, en effet, les nombreux facteurs influençant l'hémolyse, il est bien rare qu'une drogue contienne une seule saponine susceptible d'être isolée à l'état pur et inaltéré. Or, comme l'affirme KOFLER, « c'est dans ce seul cas qu'il serait possible, en comparant l'indice hémolytique de la drogue à celui de la saponine pure, de conclure à la teneur en % de la drogue ».

En résumé, de toutes les méthodes de dosage des saponines que nous venons de passer en revue, aucune n'est entièrement satisfaisante ; une méthode rigoureuse est encore à trouver.

Néanmoins, nous montrerons dans les pages qui suivent que la mesure de l'indice hémolytique nous a permis de comparer des drogues à saponines entre elles ; complétée par les essais physiologiques, elle nous donnera de précieuses indications sur leur activité thérapeutique ; enfin, elle constituera un excellent procédé de vérification de l'état d'un échantillon.

COMPARAISON DU CHIFFRE-MOUSSE ET DE L'INDICE HÉMOLYTIQUE

Certains auteurs ont imaginé de faire une étude comparative du chiffre-mousse et de l'indice hémolytique. KOFLER [34], en particulier, s'est livré à une série d'expériences sur des lots de racines de salsepareille, dont les échantillons différaient par l'âge et l'origine. De nombreux essais lui ont permis de conclure à un comportement différent de la part du chiffre-mousse et de l'indice hémolytique. C'est ainsi que deux spécimens de racine de salsepareille, âgés respectivement de 12 et 15 ans, accusaient le même indice hémolytique et des chiffres-mousses triples l'un de l'autre ; d'autre part, des échantillons de cette même drogue, âgés de 5 et 15 ans s'avéraient, cette fois, identiques par leur chiffre-mousse, mais différaient, par contre,

par des indices hémolytiques de l'ordre de 200 et 500. D'ailleurs, une pareille différence semble facile à expliquer. On sait, en effet, que les saponines se divisent en deux groupes : d'une part les *saponines acides*, à réaction acide, aphrogènes et peu toxiques, d'autre part les *saponines neutres*, aphrogènes elles aussi, mais toxiques et à propriétés hémolytiques marquées. Or, il est très fréquent qu'une drogue contienne à la fois des saponines neutres et des saponines acides, et par suite, la méthode hémolytique nous donnera des indications sur les premières seulement, alors que la détermination du chiffre-mousse nous renseignera sur l'ensemble.

CHAPITRE TROISIÈME

ÉTUDE PHYSIOLOGIQUE

Les saponines ont suscité, ces dernières années, de multiples travaux, qui ont permis de mettre en lumière les nombreuses et réelles propriétés physiologiques de ces glucosides.

Dans de récentes publications, KOFER [34], ASTRUC et GIROUX [4], Mlle VILLEDIEU [68] et M. Raoul GUICHARD [25] ont donné des vues d'ensemble sur les résultats qui ont été obtenus.

Avant d'étudier, d'une manière particulière, les propriétés physiologiques de la saporubrine, il convient de les faire rentrer dans le cadre des propriétés générales des saponines.

I. — Propriétés générales des saponines.

Nous nous bornerons à rappeler brièvement :

1^o) La propriété des saponines d'exalter l'activité de certaines enzymes, telle la lipase pancréatique ; la possibilité de protéger l'insuline contre l'action destructrice de la pepsine et de la trypsine (LASCH et BRUGEL) [44] et de réactiver la présure inactivée par le charbon.

2°) L'influence favorable selon certains auteurs, défavorable, selon d'autres, sur les fermentations.

3°) La facilité de développement des bactéries et micro-organismes sur les solutions de saponine exposées à l'air, avec comme conséquence, la chute de l'indice hémolytique.

4°) La propriété de la saponine d'atténuer la virulence du bacille de la tuberculose (AREMA) [3] et de favoriser, chez l'antigène tétanique, la production de l'antitoxine spécifique (RICHOU R. et THIBAUT P.) [58].

5°) La toxicité sur les têtards et les poissons.

6°) Le pouvoir hémolytique.

7°) Les phénomènes sanguins provoqués par une injection intraveineuse, à savoir une leucocytose intense due surtout au début à l'augmentation des polynucléaires neutrophiles, mais ensuite à celle des lymphocytes ; cette action est suivie parfois de leucopénie.

8°) L'influence des saponines sur le métabolisme du cholestérol et par là, semble-t-il, sur celui des hormones génitales elles-mêmes. En effet, une injection intraveineuse de saponine entraîne une phase d'hypercholestérolémie, généralement suivie d'une phase d'hypocholestérolémie.

En outre, une intoxication chronique par les saponines permet de déceler chez le lapin un abaissement de la teneur en cholestérol de 30 % pour les muscles et 10 % pour le foie (HANDOWSKY et TROSSEL) [28].

9°) La possibilité d'utiliser les saponines comme adjuvants ou modificateurs « per os » de certains médicaments. En effet, grâce à ces glucosides : la toxicité de la strophanthine et de la digitaline chez la grenouille et la souris est exaltée (KOFER et KAUREK) [39] ; le curare, normalement sans action sur la grenouille, produit ses effets habituels (KOFER et FISCHER) [36] ; l'absorption du glucose chez le chien, le lapin et l'homme est favorisée (LASCH et BRUGEL) [44] ; on assiste à une accé-

lération de la résorption et de la potentialisation de la strychnine, du curare, de la picrotoxine, de la morphine, de la cocaïne, du chlorure de magnésium (ANNAU et HERGLOZ, 1927) [1 et 2], de l'aspirine (KOFLER et FISCHER) [37], des sels de calcium (LASCH, BERGER-TROPPER et FISCHER) [67] de l'insuline (RATHERY) [56 bis]; le sulfate de magnésium, normalement sans action narcotique, provoque en présence de saponine chez la souris et la grenouille une narcose, même à des doses relativement faibles (KOFLER et FISCHER) [38].

Selon TIFFENEAU [65], cette accélération de résorption serait due à l'abaissement de la tension superficielle du liquide ingéré.

10^o) L'imbibition du muscle strié (sartorius de grenouille), avec comme conséquence l'attaque des couches cellulaires et sa contraction (OVERTON) [55].

11^o) L'action paralysante des saponines injectées dans le muscle de la grenouille (LOQUE) [47].

12^o) L'influence sur le cœur de grenouille marquée, d'abord par l'accélération et le renforcement des contractions, ensuite par le ralentissement et l'affaiblissement de celles-ci, et enfin par l'arrêt systolique du ventricule avec dilatation des oreillettes.

13^o) Les propriétés irritantes sur les muqueuses et sur la peau excoriée. Sur les muqueuses du rhinopharynx en particulier, les saponines provoqueront, en même temps que des effets sternutatoires, une irritation considérable, se traduisant par une toux incoercible. Sur la peau, l'action se traduirait par de l'inflammation et l'abolition de la sensibilité, suivant BOURCET et CHEVALIER [11]. Toutefois, d'après KOFLER, les solutions de saponine ne produiraient aucune action nocive sur un épiderme sain.

14^o) La toxicité des saponines, lorsqu'elles sont introduites dans le torrent circulatoire aux doses de 0 g. 0002 à 0 g. 0005 par kg d'animal. Il y a mort par paralysie centrale progressive et, en même temps, apparition de selles abondantes, riziformes, sanglantes. L'autopsie montre l'inflammation du système

gastro-intestinal, et même presque toujours, la nécrose et la perforation de l'intestin, accompagnées d'hémolyse. Souvent, les reins portent des marques de néphrite.

15°) La toxicité bien moindre par voie buccale ou intestinale, se traduisant par l'irritation et le gonflement des muqueuses de la bouche, de la gorge, du larynx, avec toux et hypersécrétion. Le peu d'importance de cette toxicité serait due, selon certains auteurs, à la non-résorption des saponines par la muqueuse intestinale et, selon d'autres, à l'action annihilante des ferments digestifs qui transformeraient les saponines en composés non nocifs, à condition que les solutions ne soient pas trop concentrées.

16°) L'immunité conférée par des injections faibles, mais répétées, de saponine à un cobaye. L'animal sera capable de résister à des doses plusieurs fois mortelles de saponine (FOURNIER, LUMIÈRE et Mme R.-H. GRANGE) [22 - 48] et son sérum aura acquis un pouvoir antihémostatique et thermostable, ne disparaissant pas à la suite de chauffages à 58-60°.

II. — Propriétés de la saponaire et de sa saponine.

De toutes les propriétés générales que nous venons de passer, en revue, certaines ont été particulièrement étudiées sur la saponaire et sa saponine. Nous examinerons successivement la toxicité et les actions sur l'imbibition du muscle strié, sur la pression artérielle, sur le cœur isolé et sur l'intestin de lapin.

1°) TOXICITÉ.

A) *Sur les poissons.*

Les poissons sont particulièrement sensibles aux saponines, et ceci à tel point, qu'ils ont été pris comme tests. En effet, l'*indice-poisson* constituera, en même temps que l'*indice hémolyse*

lytique et le chiffre-mousse, un des éléments caractéristiques d'une saponine. On désigne sous le terme d'indice-poisson la *concentration en saponine, qui pour 100 cc. de solution, déterminera la mort d'un poisson d'espèce et de poids donné, après 1 heure d'immersion.*

L'intoxication débute par une phase de mouvements incertains du poisson ; mais bientôt l'animal s'immobilise, se couche sur le flanc, puis sur le dos, de plus en plus insensible aux excitations extérieures. Seuls, les mouvements des branchies témoignent encore de la vie de l'animal, mais eux aussi ne tardent pas à cesser et la mort survient.

Le mécanisme de cette intoxication a été discuté. Pour KOBERT [33], les saponines attaqueraient les branchies en les rendant impropres à la respiration ; pour JAKOBSON [29], la mort du poisson n'aurait d'autre cause que le manque d'air du liquide d'immersion et c'est ce qui expliquerait le retour des mouvements par plongée dans l'eau pure, chez un poisson présentant un début d'intoxication ; pour OVERTON [45] enfin, la mort dans les eaux non salifiées serait due à la destruction des cellules épithéliales des branchies par la saponine ; dès lors, l'équilibre isotonique entre la plasma et le liquide extérieur tendant à s'établir, il y aurait échange osmotique et mort.

Mlle VILLEDIEU [68] a déterminé les doses toxiques de saponine de saponaire sur les vairons et les cyprins.

Cette toxicité varie, en premier lieu, avec l'espèce du poisson. En effet, à la température de 18°, la durée d'intoxication chez le vairon est de 25 minutes pour une dilution au 1/1.000^e ; de 36 minutes pour une dilution au 1/2.000^e, et de 45 minutes pour une dilution de 1/4.000^e. Quant aux cyprins, ils offrent une résistance plus grande, et pour une dilution de 1/4.000^e et une température de 16°, il ne faut pas moins de 2 heures pour que la mort s'ensuive.

Mais cette toxicité se modifie également avec la température du bain. En effet, pour une dilution de 1/3.000^e, la durée d'intoxication, qui est de 6 heures pour une température de 80° n'est plus que de 1 h. 26' à la température de 16°, et de 45 mi-

nutes à la température de 25°. Il s'ensuit que l'élévation de température exalte la toxicité de la saponine ; c'est d'ailleurs là un fait courant en pharmacodynamie.

Enfin, l'action toxique varie avec le pH. Mlle VILLEDIEU a constaté, en utilisant des solutions phosphatées de saponine de saponaire à la dilution de 1/3.000^e que la durée d'intoxication, qui était de 2 h. 23' pour un pH de 5,8, passait à 1 h. 24' pour un pH de 6,9, et n'était plus que de 1 h. 16' pour un pH de 8,5. De plus, les pH primitifs de la solution, qui étaient de 5,8, 6,9 et 8,5, étaient ramenés, à la fin des expériences, respectivement à 6,1, 6,9 et 8,1. Il résulte de ces observations que la toxicité est favorisée par l'alcalinité et aussi, fait curieux, que les poissons tendent à ramener le pH du milieu à la neutralité.

B) *Sur les cobayes.*

Par voie interpéritonéale, la saponine de saponaire, selon Mlle VILLEDIEU [68], provoque la mort du cobaye en moins de 4 heures, à la dose de 7 mg. 5 pour 100 g. d'animal.

L'intoxication est caractérisée par des convulsions, des cris, la paralysie du train postérieur et un affaiblissement considérable précédant la mort de l'animal.

C) *Sur le lapin.*

LOQUE et le Dr NEBLE [47] ont opéré sur des lapins âgés de 3 ou 4 mois, d'abord par injection dans l'épaisseur du muscle d'un membre, ensuite par injection intraveineuse.

En injection intramusculaire, ces auteurs ont constaté que, jusqu'à 6 cg., tout se bornait à une excitation locale ; qu'au delà de 10 cg. l'animal présentait des phénomènes généraux plus ou moins graves et que 15 cg. suffisaient à tuer un lapin de 2 kgs.

L'intoxication se traduit par des effets locaux (affaiblissement du membre, difficultés de mouvements, réflexes abolis, parésie, anesthésie), qui deviennent généraux au bout de 5 à 10 minutes.

Le lapin reste accroupi au sol, immobile, avec de temps en temps quelques mouvements convulsifs. Bientôt l'animal ne répond même plus aux excitations extérieures, le corps s'affaisse et la mort ne tarde pas à survenir.

En même temps, on note l'apparition d'urines très abondantes dans lesquelles on peut déceler la saponine ; le pouls et la température sont faibles, le cœur ralenti.

Si, au lieu d'utiliser la voie intramusculaire on opère par injection dans la veine crurale, on assiste à des phénomènes d'intoxication infiniment plus rapides. En effet, 6 cg. de saponine de saponaire suffisent, dans ce cas, à provoquer la mort foudroyante d'un lapin de 2 kgs.

Selon LOQUE, la saponaire agirait sur la fibre musculaire du cœur en la paralysant et en provoquant la mort en diastole.

Mlle VILLEDIEU [68] a également essayé de déterminer la dose toxique chez le lapin, mais les observations de cet auteur se bornent à constater que la dose de 17 mg. par kg d'animal n'est pas mortelle.

D) *Chez le chien.*

Suivant LOQUE [47] et le Dr NEBLE, la dose de saporubrine nécessaire en intraveineuse, pour obtenir la mort d'un chien de 6 kg. 500, serait de 20 cg.

Ces auteurs, en conclusion de leurs travaux, généralisent les résultats obtenus, pour le lapin d'abord et pour le chien ensuite, et arrivent à la conclusion que la dose mortelle en intraveineuse est de 1/30.000^e du poids de l'animal.

E) *Chez l'homme.*

Une observation des docteurs DEUMIE et MARTIN-SANS [18] a permis de constater la toxicité de la saponaire par voie buccale. En effet, le décocté, à des doses relativement faibles, provoque déjà de l'agitation ébrieuse, de l'euphorie et même une certaine insensibilité à la douleur.

A dose plus élevée, l'intoxication est caractérisée par la sécheresse de la bouche, la paralysie de la langue, de la mydriase, des hallucinations, de la polyurie, de l'affaiblissement du pouls.

Ces symptômes semblent bien prouver, contrairement à l'opinion admise, l'absorption des saponines par les muqueuses du tube digestif.

Toutefois, il convient de rappeler l'innocuité des saponines et, partant de la saponaire par voie externe, en application sur un épiderme sain. Par suite, il semblerait que l'on puisse utiliser avec avantage la saponaire dans la fabrication de succédanés de savon.

2^e) QUELQUES EFFETS PHYSIOLOGIQUES.

Imbibition du muscle strié.

Mlle VILLEDIEU [68] a constaté que le muscle gastronémien de grenouille immergé dans une solution de saponine subit une diminution d'imbibition variant avec le milieu utilisé.

Cet auteur, après avoir fait dissoudre une même quantité de saporubrine, successivement dans l'eau de la ville, dans du liquide de Ringer, du sérum glucosé à 40 % et dans une solution à 7 % de chlorure de sodium, a constaté que la diminution d'imbibition était maxima pour l'eau de la ville et minima pour le liquide de Ringer.

Action sur la pression artérielle.

Selon Mlle VILLEDIEU [68], une dose de 5 mg. de saponine par kg. d'animal suffit à produire chez le lapin un abaissement de pression artérielle de 2 cm. de mercure.

Cet effet hypotenseur n'est pas dû, contrairement à l'opinion de certains auteurs (RAYBOT, 1938) [57], à la présence de choline ou d'esters de la choline contenus à l'état d'impuretés

dans les saponines. Mlle VILLEDIEU le démontre, après des essais sur le muscle de sangsue, énérvé et esériné, sur lequel l'acétyl-choline a une action contracturante quasi spécifique.

En effet, l'expérience montre, d'une part que la dose moyenne d'acétyl-choline nécessaire pour produire chez le lapin une chute de pression de 2 cm. de mercure est de 2,5 γ ; d'autre part, des essais effectués sur le muscle de sangsue établissent que 5 mg. de saporubrine provoquent une légère contraction, mais dix fois inférieure à celle déterminée par 0,5 γ d'acétyl-choline.

Il en résulte que 5 mg. de saponine de saponaire ne contiennent pas d'acétyl-choline ou en contiennent au maximum 0,05 $\%$, quantité de 50 fois inférieure à la dose d'acétyl-choline nécessaire pour provoquer la chute de tension enregistrée.

Action sur le cœur isolé.

Des essais, effectués sur le cœur d'escargot isolé et immergé dans le liquide de Ringer, ont permis à Mlle VILLEDIEU [68] de constater une élévation du tonus et une diminution de l'amplitude des contractions à la concentration de 5/10.000^e.

Action sur l'intestin de lapin.

Toujours d'après le même auteur, une dose de 15 mg. de saponine de saponaire dissoute dans 150 cc. de liquide de Ringer (concentration : 1/10.000^e) suffit à produire sur l'intestin isolé de lapin une élévation de tonus et une diminution de l'amplitude des contractions.

CHAPITRE QUATRIÈME

EMPLOIS ET FORMES PHARMACEUTIQUES DE LA SAPONAIRE.

Emplois.

La saponaire, dont l'activité thérapeutique a été tant vantée au cours des siècles derniers, est tombée de nos jours dans un oubli à peu près complet. C'est à peine si l'on reconnaît à cette plante quelques propriétés expectorantes et dépuratives. Quant à son action diurétique, elle est très discutée et d'aucuns prétendent même, que cette vertu serait due tout simplement à l'eau chaude de la tisane.

L'emploi de cette drogue est surtout du domaine de la médecine populaire qui l'utilise contre les maladies de peau, les rhumatismes, la goutte, et comme amer, apéritif, stomachique, expectorant, fondant et dépuratif.

Et pourtant, dans un article récent, Henri LECLERC [46] réhabilite en quelque sorte la saponaire. Cet auteur fait mention d'une observation de J. FICKET (1921), suivant laquelle « loin d'être un agent myélotoxique produisant l'aphasie de la moelle, en raison de la destruction des hématies circulantes, la saponaire provoquerait une réaction intense de tous les tissus myéloïdes de l'organisme ».

La thérapeutique moderne, selon Henri LECLERC, aurait intérêt à utiliser les nombreuses vertus de cette plante et, entre autres, son action hypotensive ; ou, au contraire, sa possibilité de renforcer les mouvements du cœur, suivant la dose ; son pouvoir d'accroître la diurèse, d'augmenter la sécrétion de la bile et de provoquer, suivant les observations de L. PETSHACHER et P. FELDER, « un flux abondant des sucs duodénaux dont elle augmente les actions diastasiques ».

A ces propriétés, il faut joindre la faculté de la saporubrine de se combiner aux stérols, son pouvoir dispersif, son influence considérable sur les phénomènes de perméabilité cellulaire et sur l'imbibition du muscle strié, son action hypercrinique sur les muqueuses des voies respiratoires.

Nous n'aurons garde, pour terminer cet aperçu thérapeutique, d'omettre la possibilité d'emploi de cette drogue comme « adjuvant ou modificateur de l'absorption per os des médicaments ». Nous savons déjà que c'est là, une des propriétés générales des saponines.

Mais l'usage de la saponaire ne se limite pas seulement à la thérapeutique ; cette plante est également utilisée en pharmacie comme agent émulsif dans la vie domestique et aussi dans l'industrie.

Le pharmacien aura, en effet, avantage à utiliser soit les préparations de saponaire, soit la saporubrine pour la confection d'émulsions très stables ; l'expérience montre que le pouvoir aphrogène et le pouvoir émulsif vont de pair et, par suite, on pourra émulsionner ainsi le coaltar, les produits pyrogénés, le goudron, l'huile de foie de morue, l'axonge, la créosote, l'acide phénique, l'huile de ricin, l'essence de térébenthine, l'essence de pétrole et même le lait lorsqu'on voudra homogénéiser les échantillons d'analyse.

D'autre part, la saponaire est encore utilisée dans certaines campagnes pour nettoyer les étoffes de laine, parfois aussi pour décruer les fils ou blanchir les dentelles. « Il n'est de bonne lessive sans saponaire », dit un vieux dicton, et cette plante est d'une grande utilité surtout lorsqu'il s'agit de laver des tissus fragiles.

En outre, de nombreuses industries ont recours à la saponaire, et mieux, à sa saponine. Nous citerons seulement l'Industrie des cuirs qui utilise la saporubine dans le dégraissage des peaux de mouton ; l'Industrie textile qui l'emploie non seulement dans le lavage des laines mais aussi comme agent d'égalisation de teinte et colloïde protecteur. (HENK [28 bis]).

Enfin, mentionnons les emplois innombrables de la saponaire et de la saporubine dans la fabrication d'opiates, de lotions capillaires, de savons liquides, de shampoings, de produits cryptogamiques et parasitocides, d'extincteurs d'incendie, de produits détersifs...

Formes pharmaceutiques.

La saponaire figure au Codex français et dans de nombreuses pharmacopées étrangères.

Il suffit de parcourir les différents Codex parus jusqu'à ce jour, pour se faire une idée assez juste sur les vicissitudes de cette drogue.

En effet, si la pharmacopée française ignore la saponaire jusqu'en 1866, par contre, cette date marque l'apparition officielle de trois préparations obtenues à l'aide de cette drogue :

- 1^o) Un extrait mou par lixiviation.
- 2^o) Un infusé de feuilles de 1/2 heure.
- 3^o) Un infusé de racines de 2 heures.

Avec le Codex de 1884, le nombre de préparations passe à quatre :

- 1^o) Un extrait mou obtenu cette fois par double macération.
- 2^o) Un infusé de feuilles de 1/2 heure.
- 3^o) Un infusé de racines de 2 heures.
- 4^o) Un sirop préparé par addition de sucre à un infusé de racines, le tout étant porté à l'ébullition.

Quant aux Codex de 1908 et de 1937, ils sont particulièrement laconiques et ne signalent plus que le sirop.

Et si maintenant on examine les pharmacopées étrangères, on constate qu'un grand nombre de celles-ci donnent une description de la saponaire, en indiquant comme parties employées, les feuilles et surtout les racines. C'est ainsi que nous avons pu relever cette description dans les pharmacopées : allemande, de 1785 ; grecque, de 1884 ; hollandaise, de 1885 ; portugaise, de 1876 ; roumaine, de 1893 ; suédoise, de 1869.

Mais si la saponaire en tant que drogue figure dans de nombreuses pharmacopées, par contre les préparations sont mentionnées plus rarement. Toutefois, un extrait ferme qui est obtenu par macération, figure dans la pharmacopée belge de 1885.

Un extrait mou obtenu par lixiviation, dans la pharmacopée grecque de 1884.

Et un extrait ferme par macération, dans la pharmacopée portugaise de 1876.

SECONDE PARTIE

RECHERCHES PERSONNELLES

Au cours de nos recherches bibliographiques sur la saponaire et les drogues à saponines, nous n'avons pas été sans remarquer la présence de quelques points obscurs dans les travaux effectués jusqu'ici.

D'une manière générale, lorsqu'un auteur désire avoir une idée sur la richesse en saponine d'une drogue, il s'adresse à la méthode hémolytique en utilisant le décocté durant 1/2 heure préparé à l'aide d'un échantillon de cette plante. Mais est-ce vraiment là le procédé extractif de choix ? Pourquoi, avant de préconiser le décocté, ne pas établir sa supériorité extractive sur l'infusé, le digesté et même le macéré ?

D'autre part, si les pharmacopées françaises consacrent certaines préparations aqueuses, et entre autres les infusés de feuilles et de racines, l'extract et le sirop, par contre elles ne mentionnent en aucune façon les préparations alcooliques. Et pourtant, l'alcool offre de réels avantages, ne serait-ce que celui d'assurer une meilleure conservation. N'y aurait-il pas lieu d'introduire dans la pharmacopée une teinture de saponaire et même une alcoolature stabilisée de cette drogue ?

Enfin, nous savons le rapport étroit qui lie le chiffre-mousse et le pouvoir émulsif. Ces deux notions sont, comme nous l'avons vu, d'un grand intérêt au point de vue pharmaceutique et industriel et risquent de prendre une importance plus considérable encore pour la fabrication de produits détersifs. Nous avons pensé qu'il serait peut-être intéressant de faire une étude de ce pouvoir aphrogène en comparant ses variations à celles de l'indice hémolytique, cette comparaison étant complétée par quelques essais physiologiques sur les poissons.

Ces différentes considérations justifient le plan de nos recherches personnelles que nous avons dressé et exposé au début de ce travail.

CHAPITRE PREMIER

ÉTUDE DES VARIATIONS DE L'INDICE HÉMOLYTIQUE.

I. — Généralités.

Avant d'exposer les résultats obtenus dans cette étude de l'indice hémolytique, il convient de donner certaines indications sur la méthode utilisée. Les différents points à considérer sont les suivants :

- 1^o) La drogue.
- 2^o) Le sérum physiologique.
- 3^o) L'émulsion de sang.
- 4^o) Les solutés extractifs.
- 5^o) La méthode hémolytique.

I. — LA DROGUE.

La saponaire étant une plante commune, nous avons pensé qu'il serait préférable, afin d'avoir toute garantie sur l'origine de la drogue et sur sa pureté, de procéder nous-même à sa récolte. Les bords du Lez et de la Mosson, par endroits, foison-

nent en saponaires. Nous avons recueilli ainsi au cours du mois d'octobre, c'est-à-dire à une époque où les racines et les rhizomes sont particulièrement riches en saponine, plusieurs kilogs de système souterrain. Celui-ci, nettoyé soigneusement, fragmenté et desséché d'abord à l'air libre pendant un mois, puis à l'étuve à 40° durant plusieurs jours, nous a fourni des échantillons que nous avons soumis à une pulvérisation grossière.

L'obtention d'une poudre fine est assez malaisée par suite des propriétés fortement irritantes et sternutatoires de la saponaire ; cette action est tellement intense que, de même que pour l'ipéca, les manipulations fréquentes de poudre de saponaire peuvent conduire à de véritables phénomènes d'idiosyncrasie. Pour mener à bonne fin l'opération, nous avons été obligé d'avoir recours à des tamis et des mortiers couverts et de nous protéger les voies respiratoires.

Finalement, après homogénéisation et tamisation au tamis n° 30, nous avons obtenu une poudre fine, brun clair, à odeur assez caractéristique.

2. — LE SÉRUM PHYSIOLOGIQUE.

Dans tous nos essais, nous avons utilisé un sérum physiologique tamponné à l'aide de phosphates monopotassique et disodique dont la composition était la suivante :

Phosphate monopotassique	1,652 g.
Phosphate disodique	9,715 g.
Chlorure de sodium	9 g.
Eau distillée	1.000 cc.

Le pH était ajusté à 7,4, à l'aide de soude, en présence de bleu de bromothymol.

3°. — L'ÉMULSION SANGUINE.

Toutes nos hémolyses ont été effectuées avec du sang de mouton. Celui-ci, après avoir été centrifugé et lavé à trois reprises à l'aide du sérum physiologique, était dilué avec ce même sérum de manière à obtenir une émulsion à 2 %.

4°. — LES SOLUTÉS EXTRACTIFS.

D'une manière générale, tous les solutés extractifs que nous avons préparés étaient à la concentration de 0,50 % en poids, afin d'éviter les variations de volume dues à l'action de la température. La poudre de saponaire destinée à l'obtention des préparations était à chaque fois homogénéisée soigneusement et desséchée à l'étuve à 40° durant 24 heures, de manière à opérer continuellement sur des échantillons identiques et constants.

Quant au soluté-test de saponine purissimum album de Merck, il était à 0,02 % et, de même que les préparations de saponaire, il était obtenu par l'emploi de sérum physiologique.

5°. — LA MÉTHODE HÉMOLYTIQUE.

Le matériel utilisé pour nos hémolyses se réduisait à peu de choses : une centaine de petits tubes dits à hémolyse, de même diamètre, et une pipette permettant d'apprécier le 1/100^e de cc.

Après avoir disposé les tubes, selon trois séries de trente, nous avons introduit dans chacun de ces tubes la valeur de 1 cc. d'émulsion de sang exactement mesurée, à la température du laboratoire (14° - 18°).

Ceci fait, dans les tubes de la première série on ajoute des quantités croissantes de soluté de saponine de Merck, à savoir 0,02 cc. dans le premier tube ; 0,04 cc. dans le deuxième tube et ainsi de suite jusqu'à 0,60 cc.

On complète ensuite à 2 cc. C'est ainsi que dans le premier tube qui contient déjà 1 cc. d'émulsion de sang + 0,02 cc. de saponine de Merck, nous ajouterons 0,98 cc. de sérum physiologique. Le deuxième tube exigera 0,96 cc. de sérum physiologique ; le troisième 0,94 cc., etc...

Afin d'éviter l'action trop brutale du soluté de saponine de Merck, on a intérêt à remplir les tubes dans l'ordre suivant : émulsion de sang, sérum physiologique, soluté de saponine.

L'opération terminée, on agite chacun des tubes en les faisant rouler entre les doigts à plusieurs reprises.

On opère de même avec les 2^e et 3^e séries, mais en utilisant cette fois, au lieu du soluté de saponine de Merck, deux préparations identiques de saponaire ; autrement dit, l'hémolyse est réalisée en double, afin de dépister toute erreur de technique.

Dès lors, il ne reste plus qu'à abandonner les tubes à la température du laboratoire.

Dès la première heure, l'hémolyse se déclanche dans les tous derniers tubes de chaque série. La diffusion de l'hémoglobine se traduit par la coloration rouge du liquide, qui de translucide est devenu transparent. Si, par hasard, l'hémolyse se produisait dans les premiers tubes, c'est que la préparation de saponaire serait trop concentrée, et alors il conviendrait de la diluer suffisamment et de recommencer l'opération.

La lecture définitive se fait au bout de 12 à 24 heures. L'examen des tubes montre la marche de l'hémolyse avec une netteté remarquable. Dans le fond des premiers tubes on distingue les hématies intactes formant dépôt et surmontées d'un liquide clair et incolore. Il suffit d'agiter à nouveau ces tubes pour rétablir l'émulsion primitive.

Puis, l'observation des tubes suivants permet de discerner un début de coloration rosée du liquide. C'est l'hémolyse partielle qui s'amorce.

Dans les tubes suivants l'hémolyse partielle s'intensifie, le liquide, de rose pâle, passe au rouge net et le dépôt d'hématies devient de moins en moins abondant. Il s'agit alors de déterminer le premier tube où s'est produit l'hémolyse totale, autrement dit le premier tube pour lequel le dépôt d'hématies est devenu imperceptible. C'est ce tube qui sera retenu pour le calcul de l'indice hémolytique.

Supposons, par exemple, que l'hémolyse totale ait eu lieu au tube n° 25 (0,50 cc.) pour le soluté de saponine de Merck et au tube n° 10 (0,20 cc.) pour les préparations de saponaire.

Les calculs seront disposés ainsi :

Première série : *Soluté de saponine de Merck* :

2 cc. ——— 0,50 cc. de soluté de saponine de Merck.

1 cc. ——— 0,25 cc. de soluté de saponine de Merck.

Dilution dans le tube : $\frac{1}{0,25} = 4$.

D'autre part, le soluté de saponine pure de Merck est à 0,02 %, autrement dit à 1/5.000^e. La dilution de ce soluté est donc de 5.000.

Par suite, la dilution finale dans le tube est de :

$$4 \times 5.000 = 20.000$$

Mais comme par hypothèse l'indice hémolytique de la saponine de Merck a été fixé à 25.000 ; le coefficient de correction sera de :

$$\frac{25.000}{20.000} = 1,25$$

Deuxième série : *Préparations de saponaire* :

2 cc. ——— 0,20 cc. de préparation de saponaire.

1 cc. ——— 0,10 cc. de préparation de saponaire.

Dilution dans le tube : $\frac{1}{0,10} = 10$.

D'autre part, dire que le soluté extractif est à 0,50 %, c'est dire que la dilution est de 200.

Par suite, le dilution finale ou indice sera de :

$$10 \times 200 = 2.000.$$

Mais l'indice obtenu est *l'indice brut*. *L'indice réel* devra tenir compte du coefficient de correction :

$$\text{Indice réel : } 2.000 \times 1,25 = 2.500.$$

Afin d'éviter de renouveler ces calculs pour chaque expérience, nous avons dressé une fois pour toutes deux tables, lesquelles, combinées, nous donnaient automatiquement le résultat désiré. La première indiquant les indices bruts, la seconde les coefficients de correction, la détermination de l'indice se limitant à un simple produit.

N° des tubes à hémolyse	Volume de soluté nécessaire pour l'hémolyse totale	Indice du macéré de saponaire à 0,50 %	Indice du soluté de saponine puriss de Merck à 0,02 %	Coefficient de correction
1	0,02	20.000		
2	0,04	10.000		
3	0,06	6.667		
4	0,08	5.000		
5	0,10	4.000		
6	0,12	3.330		
7	0,14	2.857		
8	0,16	2.500		
9	0,18	2.222		
10	0,20	2.000	50.000	0,5000
11	0,22	1.818	45.454	0,5500
12	0,24	1.666	41.766	0,5985
13	0,26	1.538	38.462	0,6499
14	0,28	1.428	35.715	0,6999
15	0,30	1.333	33.333	0,7500
16	0,32	1.250	31.250	0,8000
17	0,34	1.176	29.412	0,8500
18	0,36	1.111	27.778	0,9000
19	0,38	1.053	26.316	0,9499
20	0,40	1.000	25.000	1,0000
21	0,42	952	23.810	1,0500
22	0,44	909	22.727	1,1000
23	0,46	869	21.740	1,1550
24	0,48	833	20.883	1,1971
25	0,50	800	20.000	1,2500
26	0,52	769	19.231	1,3000
27	0,54	741	18.519	1,3500
28	0,56	714	17.857	1,4000
29	0,58	690	17.241	1,4449
30	0,60	667	16.667	1,5000
31	0,62	645	16.129	1,5500
32	0,64	625	15.625	1,6000
33	0,66	606	15.152	1,6499
34	0,68	588	14.706	1,6999
35	0,70	571	14.286	1,7500

II. — Les préparations aqueuses.

a) INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE.

Le soluté extractif le plus indiqué pour étudier les variations de l'indice hémolytique en fonction de la température nous a paru être le digesté. Celui-ci était préparé par séjour à l'étuve. durant 4 heures d'un soluté à 0,50 % en poids de poudre de saponaire dans du sérum physiologique à $\text{pH} = 7,4$.

Afin de serrer de plus près les résultats, nous avons opéré sur un assez grand nombre de digestés que nous avons obtenus aux températures suivantes : 15°, 30°, 50°, 60°, 70°, 80°, 90°, 100°.

Il est toutefois à remarquer que le digesté à 100° est un cas extrême, et qu'il se rapproche davantage du décocté que du digesté proprement dit ; quant au digesté à 15°, il n'est, en réalité, autre chose qu'un simple macéré sans agitation.

Quoi qu'il en soit, tous ces solutés extractifs, après filtration, étaient prêts pour l'hémolyse.

Nous ne reviendrons pas sur la technique utilisée.

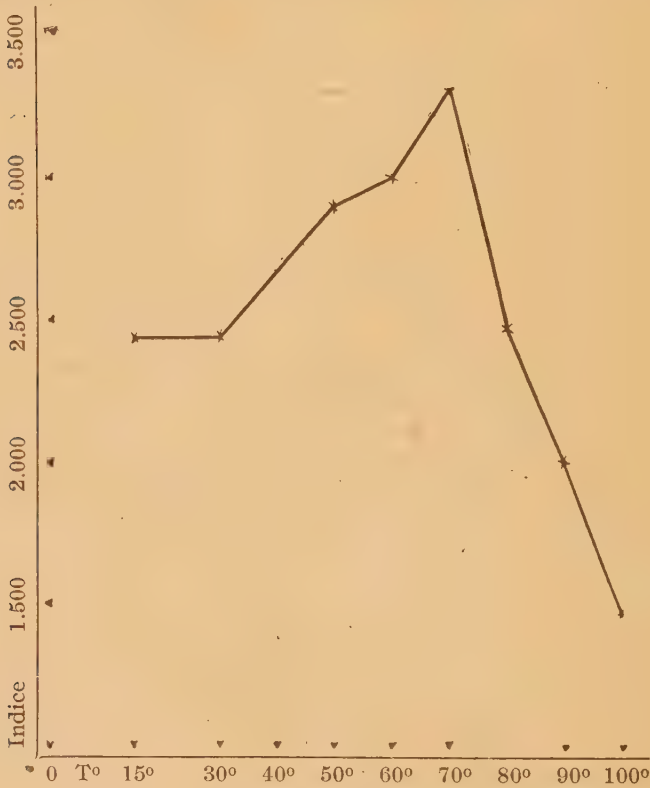
Le tableau I et le graphique I résument les résultats obtenus et mettent en valeur l'influence de la température d'obtention des digestés sur leur indice hémolytique :

TABLEAU I

Température	Indice
15°	2.440
30°	2.440
50°	2.890
60°	2.990
70°	3.300
80°	2.460
90°	2.000
100°	1.470

L'examen des résultats obtenus nous montre l'influence, considérable de la température sur l'indice hémolytique.

Nous assistons d'abord à une influence favorable, cette action se faisant sentir dès que l'on dépasse la température de 30°



GRAPHIQUE 1

Variations de l'indice hémolytique
en fonction de la température.

et que l'on s'approche de 50°. L'augmentation de l'indice se poursuit jusqu'à 60° et s'accélère entre 60° et 70°. A ce moment, il semble que l'on ait atteint la température optima et l'indice passe par son maximum.

Au delà de cette température, l'influence de la chaleur s'avère néfaste ; on note, en effet, une chute brusque de l'indice entre 70° et 80°. Ensuite, au fur et à mesure que la température du digesté augmente, on enregistre des indices de plus en plus faibles.

En résumé, tout se passe comme si l'extraction de la saporubrine se poursuivait graduellement jusqu'à la température de 70°, température pour laquelle on peut considérer que la presque totalité de la saponine est entrée en solution. Passée cette température, il semble que la molécule de saporubrine commence à subir une dislocation, et cette démolition qui débute entre 70° et 80° s'amplifiera par la suite, avec l'élévation de température.

Il nous a paru intéressant de compléter cette étude par un examen comparatif avec la saponine pure de Merck. A cet effet, nous avons préparé, à l'aide de cette saponine, un lot de digestés à 0,02 %, et de 4 heures aux températures suivantes : 60°, 70°, 80°, 90°, 100°. L'hémolyse nous a permis de constater que les digestés à 60°, 70°, 80°, 90° accusaient le même indice que le simple soluté préparé à la température du laboratoire. C'est à peine si avec le digesté à 100° on pouvait enregistrer une légère diminution d'indice. Cette série d'expériences tendrait à mettre en évidence une résistance incontestablement plus grande de la part de la saponine pure de Merck aux températures extrêmes. Comment expliquer une pareille différence de comportement ? A notre avis, cette divergence proviendrait des conditions dissemblables d'expérience.

En effet, d'une part nous avons utilisé dans notre comparaison la saponine de Merck, au lieu de la saporubrine et il est possible que ces deux saponines soient douées de propriétés sensiblement différentes. D'autre part, les digestés de saponine étaient obtenus à partir d'une substance isolée, pure, et en quelque sorte stabilisée.

Rien de comparable avec les digestés de saponaire. De plus, selon DE WILDE [71 bis], cette drogue contiendrait un complexe en évolution continue et la saporubrine constituerait l'un des stades de cette désintégration. Il faudrait, suivant NÉTIEN,

envisager cette saponine comme une réserve spéciale, c'est-à-dire comme un élément labile et transitoire. En outre, il est probable que la confection du digesté de saponaire donne naissance à des réactions secondaires et complexes, plus ou moins exaltées par la température du milieu.

b) INFLUENCE DU MODE D'EXTRACTION.

Nous avons consacré ce paragraphe à l'étude comparative des principaux procédés d'extraction utilisés en pharmacie, à savoir : le macéré, le digesté, l'infusé, le décocté. La lixiviation, en raison de sa durée toujours importante, ne nous a pas paru devoir être étudiée, vu le genre des recherches entreprises.

La confection du *macéré* n'offre guère de difficultés. Il suffit de préparer un soluté à 0,50 % de saponaire dans du sérum physiologique et d'agiter de temps en temps le flacon. Le temps de contact écoulé, il ne reste plus qu'à procéder à la filtration. Nous avons ainsi obtenu des macérés d'une 1/2 heure, de 1 heure, 2 h., 3 h., 4 h., et 5 h. (1).

Nous ne reviendrons pas sur la confection des *digestés*, nous en avons parlé plus haut. Bornons-nous à signaler que nous avons adopté la température de 60°, l'expérience précédente nous ayant montré qu'elle était parmi les plus favorables. Nous avons préparé ainsi des digestés à 60°, de 1 heure, 2 heures, 4 heures.

(1) Il nous avait paru intéressant d'apprécier dans quelles mesures l'agitation pouvait favoriser l'extraction de la saporubrine. C'est pourquoi nous avons soumis quelques-uns de nos macérés à l'action d'un agitateur réglé à la cadence de 120 tours-minutes. Mais ce procédé a l'inconvénient de provoquer l'apparition d'une mousse abondante qui ne tarde pas à remplir le flacon. La filtration du macéré s'en trouve gênée, car cette mousse, très longue à se résorber, adhère en partie sur le filtre, en partie au fond du flacon, sans qu'il soit possible de la récupérer entièrement. Or, cette écume, nous l'avons déjà indiqué, est particulièrement riche en saponine, et la moindre perte au cours des manipulations entraîne une erreur dans les résultats. C'est pourquoi nous avons dû renoncer à compléter l'étude des macérés simples, par celle des macérés avec agitation.

Quant aux *décoctés*, ils ont été obtenus à partir d'un soluté à 0,50 % de saponaire dans du sérum physiologique à $\text{pH} = 7,4$. Le ballon contenant le soluté était taré au préalable, puis bouché à l'aide d'un bouchon traversé par un long tube de verre, destiné à condenser les vapeurs. Après avoir plongé le ballon dans un bain-marie salé à saturation, on notait le moment où l'ébullition s'amorçait, et on la maintenait durant les temps de : 10 minutes, 30 minutes, 45 minutes, 1 heure. Le décocté terminé, on ramenait le poids du ballon à sa tare primitive, avec de l'eau distillée, de manière à remplacer l'eau d'évaporation, et on filtrait.

L'*infusion* est en elle-même une opération qui ne présente aucune difficulté d'exécution. Mais dans le cas présent, nous devons noter que le véhicule est constitué non pas par de l'eau, mais par du sérum physiologique. Le fait de porter ce sérum à l'ébullition provoque une augmentation de concentration en chlorure de sodium, par suite de l'évaporation. Nous avons remédié à cet inconvénient de la même manière que pour la préparation des décoctés. Pour cela, on commence par disposer un ballon sur le plateau d'une balance. Sur l'autre plateau, on place des poids de manière à établir l'équilibre et on ajoute en outre une surcharge de 100 grammes. Ceci fait, on introduit dans le ballon 0,50 grammes de poudre de saponaire. D'autre part, on pèse dans un Bécher 99,50 grammes de sérum physiologique que l'on porte à l'ébullition et que l'on verse sur la poudre dans le ballon. On complète à 100 g. avec l'eau distillée, on bouche et on laisse infuser. Nous avons fixé les durées d'infusion à 10 minutes, 1 heure, 6 heures.

Le tableau II et le graphique 2 indiquent les variations de l'indice hémolytique en fonction de ces différents solutés extractifs.

TABLEAU II •

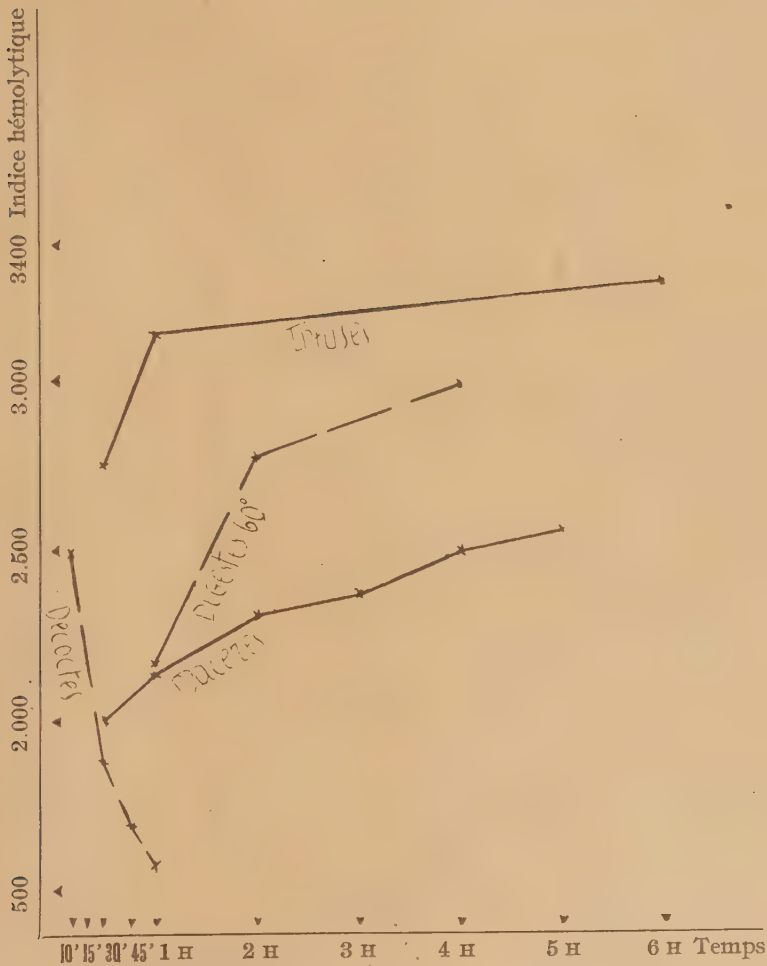
Macérés	{	½ h.	1 h.	2 h.	3 h.	4 h.	5 h.
		2.000	2.140	2.310	2.370	2.500	2.560
Infusés	{	15'	1 h.	6 h.			
		2.750	3.140	3.300			
Digestés (60°)...	{	1 h.	2 h.	4 h.			
		2.160	2.780	2.990			
Décoctés	{	10'	30'	45'	1 h.		
		2.490	1.880	1.690	1.570		

Nous voyons que l'infusé constitue le mode d'extraction de choix. L'expérience montre, en effet, qu'un simple infusé de 10 minutes est déjà incontestablement plus intéressant que le macéré durant 5 heures. Si maintenant on considère l'infusé de 1 heure, on note une augmentation notable de l'indice hémolytique se poursuivant avec l'infusé de 6 heures, mais avec un ralentissement marqué toutefois.

Vient ensuite le digesté à 60°. Mais ici, il est à noter que l'action de la chaleur est assez longue à se manifester, puisque les indices du macéré d'une heure et du digesté durant le même temps ont sensiblement la même valeur. Cette concordance s'explique en partie par le fait que le macéré de 1 heure était soumis à une agitation intermittente, tandis que le digesté était abandonné au repos. Avec le digesté de 2 heures, l'augmentation de l'indice s'avère considérable, et dès lors la prolongation du temps de contact se traduira chaque fois par de nouveaux accroissements, moins sensibles pourtant.

Si maintenant on examine les variations de l'indice du macéré avec le temps, nous sommes amenés à constater d'abord l'extraction relativement rapide de la saporubrine. En effet, un simple contact de 1/2 heure nous donne déjà un indice assez remarquable. Avec les macérés de plus longue durée nous

assistons toujours à un accroissement progressif de l'indice et il ne semble pas qu'il y ait grand avantage à prolonger le temps de contact au delà de 5 heures.



GRAPHIQUE 2

Variations de l'indice hémolytique
en fonction du mode d'extraction.

Nous avons vu, dans le paragraphe précédent, la fragilité particulière de la saporubrine aux températures extrêmes. Dès lors, rien d'étonnant à ce que le décocté s'avère d'un piètre intérêt en tant que soluté extractif. En effet, l'ébullition qui caractérise la décoction ne s'amorce que lentement, et le plus souvent elle exige, avant de se manifester, un minimum de temps d'une 1/2 heure. Or, nous savons que déjà le simple macéré, durant le même temps est à même de donner une extraction assez intéressante. L'élévation progressive de la température du milieu ne peut qu'exalter cette extraction, tout au moins tant que nous nous maintenons dans les limites d'une température favorable. Lors de l'ébullition, nous pouvons estimer la température du décocté à 102 ou 103°, puisque le véhicule est constitué non par de l'eau, mais par du sérum physiologique. C'est pourquoi nous ne nous étonnerons pas de ce que le décocté de 10 minutes ait un indice moindre que l'infusé de 15 minutes. Si l'on maintient l'ébullition pendant 30 minutes, la chute de l'indice s'accélérera et, dans ce cas particulier il est à noter que le simple macéré, durant le même temps, s'avère supérieur au point de vue extractif. Avec les décoctés de 45 minutes et de 1 heure la chute se poursuit et s'aggrave et dès lors, nous pouvons, sans grand risque, affirmer que l'indice sera d'autant plus bas que la durée de la décoction aura été plus longue.

Quelles conclusions tirer de cette série de résultats ?

Tout d'abord la nécessité de recourir à la chaleur pour obtenir une extraction de saporubrine vraiment intéressante. Nous préconisons les solutés extractifs, faisant intervenir une température douce, et en particulier le digesté de 4 heures à 70° et l'infusé durant 4 à 5 heures. Dans ce dernier mode de préparation, l'importance de l'indice s'explique par le fait que la température élevée du début s'abaisse progressivement et tout se passe comme si la majeure partie de la saporubrine passait en solution dans les premières minutes, le reste n'étant extrait que peu à peu, par la prolongation de la durée de contact.

D'autre part, tout procédé de préparation se faisant à froid, ou bien, au contraire, faisant intervenir un excès de chaleur, s'avère comme médiocre. Par suite, la macération simple ne pourra donner qu'une extraction partielle ; d'autre part avec la décoction, nous aurons sans doute une extraction complète de saporubrine, mais aussi et surtout par suite de la température du milieu, une démolition partielle de ce glucoside.

Ces différentes observations nous conduisent à des considérations générales. Nous avons vu, dans la partie bibliographique de notre travail, que le mode d'extraction préconisé dans l'étude des drogues à saponine était le décocté durant 1/2 heure. Or, ce procédé de préparation s'avère néfaste dans le cas particulier de la saponaire. D'autre part, NÉTIEN avait remarqué que « si on fait bouillir le décocté au-dessus de la flamme on obtient avec beaucoup de drogues un indice plus bas que si on prépare les extraits sur le bain-marie bouillant ». Par ailleurs, il est d'observation courante que certaines drogues à saponine, telle que la salsepareille, supportent mal l'épreuve de la décoction. Il semblerait donc que la température utilisée dans la préparation du soluté extractif d'une drogue à saponine ait une importance considérable. Par suite, l'étude comparative des différents solutés extractifs que nous avons entreprise avec la saponaire, pourrait être renouvelée, sans doute avec profit, pour les autres drogues à saponines. C'est alors seulement qu'il y aurait lieu d'adopter ou de rejeter définitivement le choix du décocté et de voir s'il conviendrait de préconiser un procédé général d'extraction ou bien, au contraire, un procédé particulier pour chaque drogue.

Il nous a paru également intéressant d'étudier l'action du *vieillissement* sur les préparations aqueuses de saponaire. L'expérience montre qu'abandonnées à la température du laboratoire, en flacon bouché, elles ne tardent pas à se troubler par suite de l'apparition de moisissures et de bactéries dans le liquide. Nous avons vu que les milieux saponinés sont d'un emploi assez fréquent en bactériologie, et par suite, la prolifération de germes dans les préparations de saponaire n'a rien qui doive nous étonner. Cependant, cette altération du soluté

extractif est accompagnée d'une chute de l'indice hémolytique qui commence à se manifester dès les premiers jours et qui se continue dans les jours suivants avec une intensité accrue.

Il est à remarquer que la chute de l'indice varie avec le soluté extractif envisagé. C'est ainsi que pour le décocté, un vieillissement de 23 jours suffit à faire disparaître toute trace d'indice hémolytique, tandis que pour le macéré et l'infusé, une période de 3 à 4 mois est nécessaire pour arriver au même résultat. Il semble, d'une manière générale, que la conservation est d'autant meilleure, que la température utilisée pour l'obtention du soluté extractif a été plus basse.

Par ailleurs, la déperdition d'indice est fonction de la température extérieure et nous avons remarqué que les préparations se conservaient bien mieux en hiver qu'en été. Cette observation est renforcée par le fait que ces mêmes préparations ne s'altèrent que très peu lorsqu'elles sont maintenues au frigidaire, et nous avons pu constater que le même décocté qui perdait toute trace d'indice hémolytique au bout de 23 jours, sauvegardait à peu près intégralement son pouvoir hémolytique lorsqu'il était gardé dans le frigidaire durant le même laps de temps.

De ces remarques ressortent : d'abord la conservation précaire des préparations aqueuses de saponaire et l'intérêt de les maintenir dans des endroits frais ; ensuite, la nécessité de détermination de l'indice hémolytique sur des préparations récentes.

c) INFLUENCE DU PH.

Dans cette série d'expériences nous nous sommes efforcé de déterminer l'influence du pH, d'abord sur l'extraction de la saporubrine, ensuite sur l'allure de l'hémolyse. Ce chapitre se divisera donc naturellement en deux parties que nous allons étudier successivement.

1^o) *Influence du pH sur l'extraction.*

Nous avons déjà vu que l'extraction de la saporubrine était sous la dépendance étroite de la température utilisée et du mode d'extraction. Il nous a paru intéressant de compléter ces recherches par l'étude de l'influence du pH sur l'indice hémolytique.

Nous avons limité nos essais à des pH voisins de la neutralité, afin de nous placer dans les conditions habituelles d'expérimentation. A cet effet, nous avons commencé par préparer un lot de sérums physiologiques, à même concentration que celui utilisé précédemment, mais à pH oscillant autour de la neutralité. Ces pH ont été ajustés aux valeurs suivantes : 6,0, 6,4, 7,0, 7,4, 8,0, 8,8, soit à l'aide de soude, soit à l'aide d'acide chlorhydrique, en présence de colorants appropriés.

Cette gamme de sérums physiologiques nous a servi à préparer une gamme identique de macérés de saponaire à 0,50 %.

Nous ne reviendrons pas sur la technique d'hémolyse utilisée. Qu'il nous suffise de dire, que l'élément variable n'était plus représenté par le procédé de préparation du soluté extractif, mais par son pH. A ce facteur prêt, le mode opératoire restait le même.

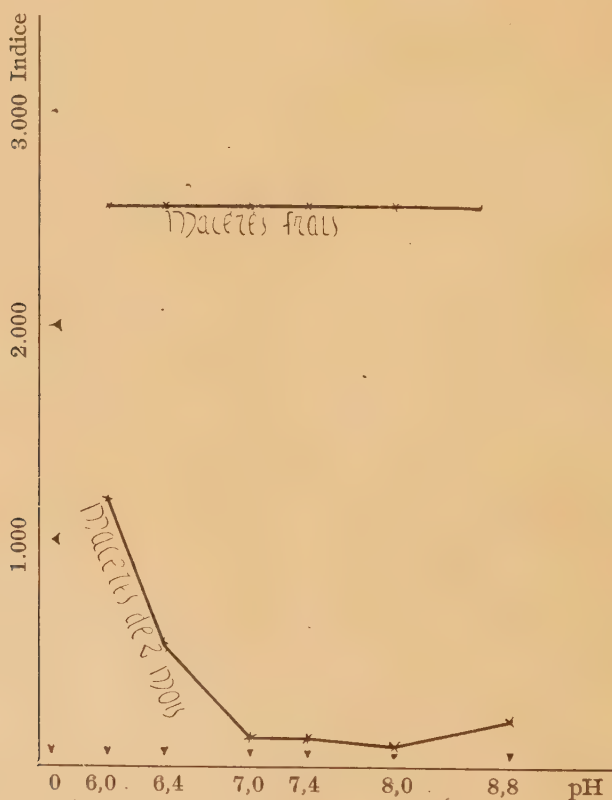
Nous avons pensé que cette série d'expériences pourrait être heureusement complétée par une étude de l'influence du pH sur le vieillissement. Les chapitres précédents nous ont, en effet, montré combien les préparations de saponaire étaient altérables avec le temps. Il semblerait que les effets de cette mauvaise conservation puissent être atténués, tout au moins en partie, par l'emploi d'un pH approprié.

Dans ce but, nous avons laissé vieillir les macérés précédents, durant une période de 2 mois et, au bout de ce temps, nous avons procédé à une nouvelle détermination de leur indice hémolytique.

Ainsi donc, le tableau III et le graphique 3 résumeront les résultats obtenus, d'une part avec les macérés frais, d'autre part avec ces mêmes macérés, vieux de 2 mois :

TABLEAU III

pH	6,0	6,4	7,0	7,4	8,0	8,8
Macérés frais	2.560	2.560	2.560	2.560	2.560	2.560.
Macérés de 2 mois	1.200	560	80	80	50	180
Déperd. d'indice	53 %	78 %	97 %	97 %	98 %	93 %



GRAPHIQUE 3

Influence du pH sur l'extraction et le vieillissement.

Il résulte de cette série d'expériences, que le pH tout au moins dans les limites considérées, semble n'avoir aucune influence sur l'extraction de la saporubrine. En effet, le simple examen du tableau III, montre que les macérés de pH : 6,0, 6,4, 7,0, 7,4, 8,0, 8,8, ont des indices identiques.

Par contre, l'épreuve du vieillissement s'avérera différente suivant le pH utilisé. Déjà un simple coup d'œil jeté sur les macérés révèle un aspect relativement clair et limpide des macérés à pH 6,4 et 6,0, tandis que les macérés à pH 8,8, 8,0, 7,4 et 7,0 se présentent sous la forme de liquides troubles, nauséabonds, abondants en moisissures.

L'hémolyse ne fera que renforcer les remarques suggérées par ce premier examen. En effet, alors que les macérés de pH 8,8, 8,0, 7,4, 7,0 accusent une déperdition d'indice oscillant entre 93 % et 98 % cette chute d'indice n'est plus que de 78 % pour un pH de 6,4 et même de 53 % pour un pH de 6,0.

Nous aurons donc intérêt, lors des préparations des solutés extractifs de saponaire, à utiliser des pH légèrement acides, non pas que l'extraction de la saporubrine en soit augmentée pour cela, mais plutôt parce que nous assurerons ainsi une meilleure conservation.

2°) Influence du pH sur l'hémolyse.

Il est inutile de revenir sur les nombreux travaux publiés sur cette question et qui tous concluent à l'influence prépondérante du pH sur l'allure de l'hémolyse. Il est à noter néanmoins que la plupart des auteurs ont opéré presque uniquement sur du sang de bœuf et ont limité leurs essais à l'emploi de saponines isolées au préalable de la drogue.

Nous avons pensé qu'il y aurait sans doute quelque intérêt à modifier légèrement les modalités de ces différentes observations en utilisant, d'une part du sang de mouton, et d'autre part, au lieu de saporubrine, la saponaire elle-même.

Comme précédemment nos essais ont été effectués sur des macérés de saponaire à 0,50 % ajustés au pH : 6,0 - 6,4 - 7,0

7,4 - 8,0 - 8,8. Mais, avant d'entreprendre ces hémolyses, il convenait de tenir compte des variations de l'indice hémolytique de la saponine puriss. de Merck. Cette saponine joue en quelque sorte le rôle d'élément de base, mais il est bien évident que son indice, fixé conventionnellement à 25.000 pour un pH de 7,4, ne peut être maintenu à cette valeur quand le pH du soluté varie. C'est pourquoi, à la suite de WALBUM et KOFLER, nous avons fait une étude de l'influence du pH sur l'allure de l'hémolyse de la saponine puriss. de Merck.

Dans ce but, nous avons préparé :

a) Un lot d'émulsions de sang de mouton à 2 %, obtenues à l'aide des sérums physiologiques mentionnés précédemment et ajustés par conséquent aux pH 6,0 - 6,4 - 7,0 - 7,4 - 8,0 - 8,8.

b) Un lot de solutés de saponine de Merck à 0,02 % et aux mêmes pH.

Nous avons opéré simultanément sur 6 séries de tubes. La première série avait été obtenue avec l'émulsion de sang à pH 6,0, le soluté de saponine à pH 6,0 et le sérum physiologique à pH 6,0. A la seconde série correspondait le pH égale 6,4 et ainsi de suite.

Bien entendu, le premier tube où se produisait l'hémolyse totale variait suivant la série ; il suffisait donc de fixer à 25.000 l'indice correspondant au pH 7,4, pour en déduire par un simple calcul les indices correspondants aux autres pH. Nous avons pu ainsi dresser un tableau récapitulatif indiquant l'indice en regard du pH utilisé. (Voir tableau).

Quant à l'étude des variations de l'indice hémolytique des macérés de saponaire en fonction du pH, elle a été effectuée à peu près dans les mêmes conditions, avec la différence toutefois que simultanément à la série obtenue avec le macéré à un pH déterminé, on préparait une deuxième série avec le soluté de saponine puriss. de Merck à un pH identique. Nous opérons ainsi dans des conditions rigoureuses de pH et la lecture des résultats nous donnait, d'une part l'indice brut du

macéré de saponaire, d'autre part l'indice brut de la saponine de Merck. Ce dernier indice comparé à l'indice donné par le tableau établi plus haut, nous fournissait le coefficient de correction nécessaire pour transformer l'indice brut du macéré en indice réel.

Comme d'autre part, nous avons vu que l'extraction de la saporubrine s'avère identique pour tous les macérés quel que soit le pH utilisé, il s'ensuit que les variations de résultats constatées mettront en évidence non pas des extractions différentes de saporubrine, mais bien un comportement différent des hématies suivant le pH.

Nous avons résumé dans le tableau IV et le graphique 4 les variations des indices hémolytiques des solutés de saponine puriss. de Merck et des macérés de saponaire en fonction du pH :

TABLEAU IV

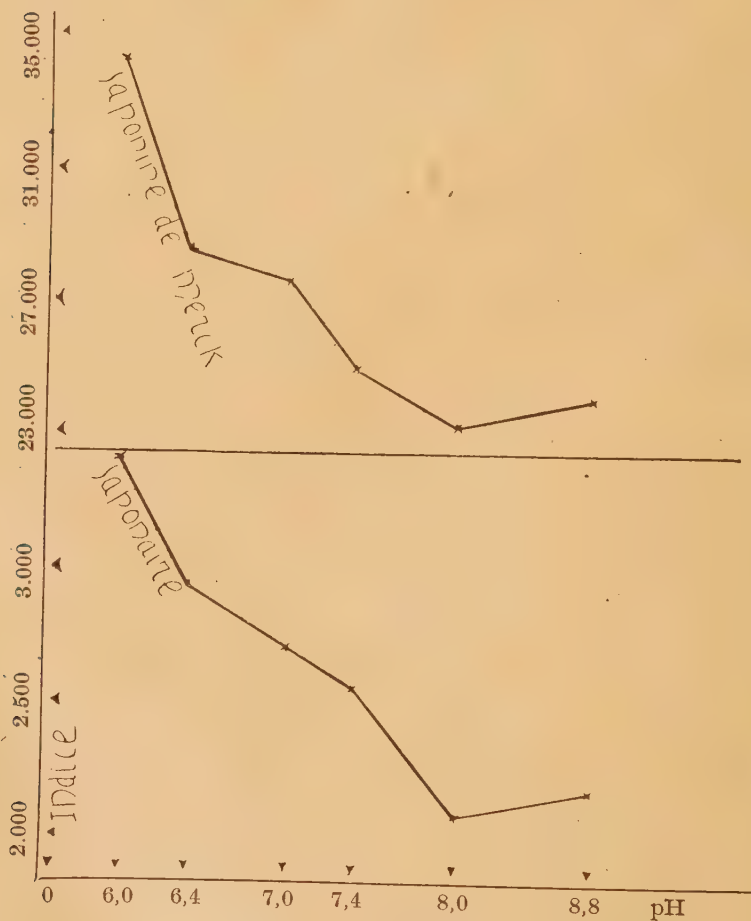
pH	6,0	6,4	7,0	7,4	8,0	8,8
Saponine de Merck	34.210	28.260	27.280	25.000	23.210	24.070
Macéré de saponaire	3.420	2.910	2.710	2.560	2.090	2.150

L'examen de ce tableau montre l'influence considérable et même décisive du pH sur l'allure de l'hémolyse. Les variations de la saponine pure de Merck et du macéré de saponine affectent sensiblement la même silhouette sur le graphique avec naturellement de plus grandes amplitudes pour la saponine de Merck.

L'indice maximum est obtenu en milieu acide pour un pH de 6,0. Au fur et à mesure que le pH tend vers la neutralité, on assiste dans les deux cas, à un fléchissement marqué de l'indice, fléchissement qui se poursuit même au delà de pH = 7,0, pour atteindre son maximum d'intensité pour un pH = 8,0. Mais nous atteignons ici l'indice minimum et, dès lors, une nouvelle augmentation de l'alcalinité a pour effet de provoquer une hausse nouvelle de l'indice.

Ces observations mettent en évidence les variations de résistance globulaire avec le pH. Les hématies de mouton, en milieu

isotonique s'avèrent dans le cas particulier de la saponine puriss. de Merck et de la saponaire, particulièrement fragiles en milieu acide et atteignent, semble-t-il, leur maximum de



GRAPHIQUE 4
Influence du pH sur l'hémolyse.

résistance pour des pH compris entre 7,4 et 8,8. C'est pourquoi, lors de nos hémolyses, nous aurons intérêt à nous maintenir, dans ces limites.

III. — Les préparations alcooliques

Nous avons été surpris de constater, au cours de nos recherches bibliographiques, l'absence de toute préparation alcoolique de saponaire, aussi bien dans les Codex français que dans les pharmacopées étrangères. Et pourtant, il est inutile d'insister sur les avantages de l'alcool, en tant que véhicule. C'est pourquoi, il nous a semblé bon de consacrer une partie de notre travail à l'étude de l'influence de l'alcool sur l'extraction de la saporubrine.

Mais de prime abord, nous nous heurtons à une sérieuse difficulté ; nous savons, en effet, que de par son pouvoir dissolvant des lipoides, l'alcool est doué de propriétés hémolytiques, même en milieu isotonique. Dès lors, il nous fallait mettre au point une méthode d'indice hémolytique en milieu alcoolique.

Nous avons tout d'abord pensé pouvoir opérer par différence. En effet, il convient de considérer, lors de la détermination de l'indice d'un soluté alcoolique isotonique de saponine, d'une part l'action hémolytique due à l'alcool, d'autre part l'action hémolytique due à la saponine, l'ensemble constituant ce que nous appellerons l'indice hémolytique global. Il semblerait donc qu'en déduisant de l'indice hémolytique global, l'action de l'alcool, on doive obtenir l'indice hémolytique réel.

L'expérience n'a pas confirmé ce point de vue : les pouvoirs hémolytiques de l'alcool et de la saponine ne s'ajoutent pas. Il est probable qu'en réalité, nous nous trouvons en présence d'un phénomène complexe, caractérisé par deux processus hémolytiques différents de la part de l'alcool et de la saponine.

Il était donc nécessaire d'envisager une seconde méthode. Nous avons commencé par préparer une série d'alcools aux titres suivants : 14° - 20° - 30° - 45° - 60°. Nous les avons transformés en quelque sorte, en sérums physiologiques alcooliques, par addition de chlorure de sodium et de phosphates monopotassique et disodique, dans les mêmes proportions que pour le sérum physiologique utilisé jusqu'à maintenant.

Une première série d'essais nous a permis de constater les propriétés hémolytiques décroissantes avec le degré alcoolique de ces différents solutés. C'est ainsi que l'alcool à 60° s'avère très fortement hémolytique, puisque 0,56 cc. suffisent à provoquer l'hémolyse totale de 1 cc. d'émulsion de sang de mouton à 2 %. Avec l'alcool à 45°, la quantité nécessaire n'est plus que de 0,68 cc. Avec les sérums physiologiques alcooliques à 30° et 20°, nous assistons à un fléchissement considérable de l'effet hémolytique, et même, fait remarquable, l'alcool à 14° isotonique et tamponné, cesse pratiquement d'être hémolytique.

Nous avons contrôlé ce fait, en établissant une gamme de tubes, contenant tous 1 cc. d'émulsion de sang de mouton à 2 % et additionnés de quantités croissantes d'alcool à 14° isotonique et tamponné. C'est ainsi que le premier tube contenait 1 cc. d'alcool à 14°, le deuxième 2 cc. et le dixième 10 cc. Ni le lendemain, ni le surlendemain, aucun des tubes n'accusait la moindre trace d'hémolyse partielle. Ce n'est qu'au bout de 8 jours, que nous avons pu constater un début d'hémolyse partielle, à partir du tube contenant 7 cc. de sérum physiologique alcoolique à 14°.

Nous sommes là loin des conditions habituelles, pour lesquelles l'hémolyse totale se produit au bout d'une douzaine d'heures seulement, avec une valeur de macéré alcoolique excédant rarement 0,50 à 0,60 cc.

C'est donc, avec juste raison, que l'on peut considérer l'action hémolytique de l'alcool à 14° isotonique et tamponné comme négligeable. Dès lors, il nous était facile de procéder à la détermination de l'indice d'une préparation alcoolique de saponaire ou d'un soluté alcoolique de saponine ; il suffisait de ramener la préparation à un titre égal à 14° ou inférieur et d'opérer en milieu isotonique, pour supprimer du même coup l'action hémolytique due à l'alcool. Par suite, tout se passait comme si on effectuait une hémolyse ordinaire, à condition de tenir compte de la dilution dans l'expression des résultats.

Nous avons tenu cependant à confirmer le bien-fondé de la méthode, par certaines expériences de contrôle. Dans ce but, nous avons commencé par faire dissoudre 0,20 g. de saponine

de Merck dans 100 g. d'alcool à 14° isotonique et tamponné. D'autre part, nous avons préparé des solutés à 0,20 g. % en poids de cette même saponine dans des alcools aux titres suivants : 20° - 30° - 45° - 60°. Il est à noter que la dissolution est d'autant plus longue, que le degré de l'alcool est plus élevé, et par suite les préparations des solutés à 45° et 60° se sont avérées particulièrement laborieuses. Finalement, nous avons à notre disposition une série de solutés de saponine de Merck, ayant tous la même concentration en saponine, et différant seulement par leur degré alcoolique.

Il convenait alors, de procéder à la dilution de ces différents solutés de façon à amener le degré alcoolique au-dessous de 14°.

Pour cela, nous avons commencé par préparer la solution suivante :

Chlorure de sodium	18 g.
Phosphate monopotassique ..	3,304
Phosphate disodique	19,430
Eau distillée	1000 cc.

qui n'est autre que le sérum physiologique habituel, avec les doses des différents sels doublées. L'emploi simultané de cette solution et d'eau distillée nous a permis de ramener les solutés alcooliques précédents à des titres inférieurs à 14° et de les rendre en même temps isotoniques.

Nous n'avons pas touché au soluté à 14°, qui remplissait en même temps les conditions de degré alcoolique et d'isotonicité. Quant aux autres solutés, ils ont été dilués ainsi :

	20°	30°	45°	60°
Préparation alcoolique.....	50 g.	33,33	20 g.	16,66
Eau distillée	0	16,67	30 g.	33,34
Sérum physiologique	50 g.	50 g.	50 g.	50 g.

Ainsi donc le soluté à 20° était dilué au 1/2, celui à 30° au 1/3, celui de 45° au 1/5 et celui de 60° au 1/6.

Des hémolyses pratiquées simultanément à l'aide de ces différents solutés nous ont permis de dresser le tableau V indiquant pour chacun le titre alcoolique primitif, la dilution, le volume utilisé lors de l'hémolyse et l'interprétation des résultats :

TABLEAU V

Titre alcoolique	Dilution	Nombre de cc. de soluté nécessaire pour l'hémolyse	Interprétation
14°	0	0,06	
20°	1/2	0,12	$0,12 = 0,06 \times 2$
30°	1/3	0,18	$0,18 = 0,06 \times 3$
45°	1/5	0,30	$0,30 = 0,06 \times 5$
60°	1/6	0,36	$0,36 = 0,06 \times 6$

Les résultats ainsi obtenus nous permettent de vérifier la passivité hémolytique des alcools isotoniques à 14° et à titres inférieurs, puisque seule la dilution est mentionnée dans l'interprétation.

Dès lors, nous pouvions aborder en toute quiétude le vif de notre sujet, à savoir l'influence du degré alcoolique sur l'extraction de la saporubrine. Nous avons opéré dans les mêmes conditions que pour la saponine puriss. de Merck, mais cette fois en utilisant des macérés de 5 heures de saponaire. Pour chacune de ces préparations, la concentration était constante (0,50 %) et seul le degré alcoolique variait. Nous avons ainsi obtenu des macérés alcooliques à 14° - 20° - 30° - 45° - 60°. Les dilutions étant pratiquées comme ci-dessus, il ne restait plus qu'à déterminer les indices hémolytiques, en tenant compte de ces dilutions dans l'expression des résultats.

Nous avons pensé qu'il pourrait être intéressant d'étudier l'influence du vieillissement sur ces solutés. Nous avons donc

abandonné ces macérés alcooliques à la température du laboratoire, en flacons bouchés, durant une période de 6 mois. Ce temps écoulé, nous avons procédé à une nouvelle détermination de leur indice hémolytique. Déjà, un simple examen, nous permettait d'augurer une bonne conservation, par suite de l'absence totale de ces moisissures qui étaient si abondantes dans les préparations aqueuses.

Le tableau VI et le schéma 5 mettent en évidence l'influence du degré alcoolique sur l'indice hémolytique et le vieillissement :

TABLEAU VI

Degré alcoolique ...	0°	14°	20°	30°	45°	60°
Macéré frais	2.560	2.550	2.100	1.930	1.710	1.680
Macéré de 6 mois...	0	1.170	1.110	1.780	1.650	1.640
Déperdition d'indice 100 %		54 %	47 %	8 %	4 %	2 %

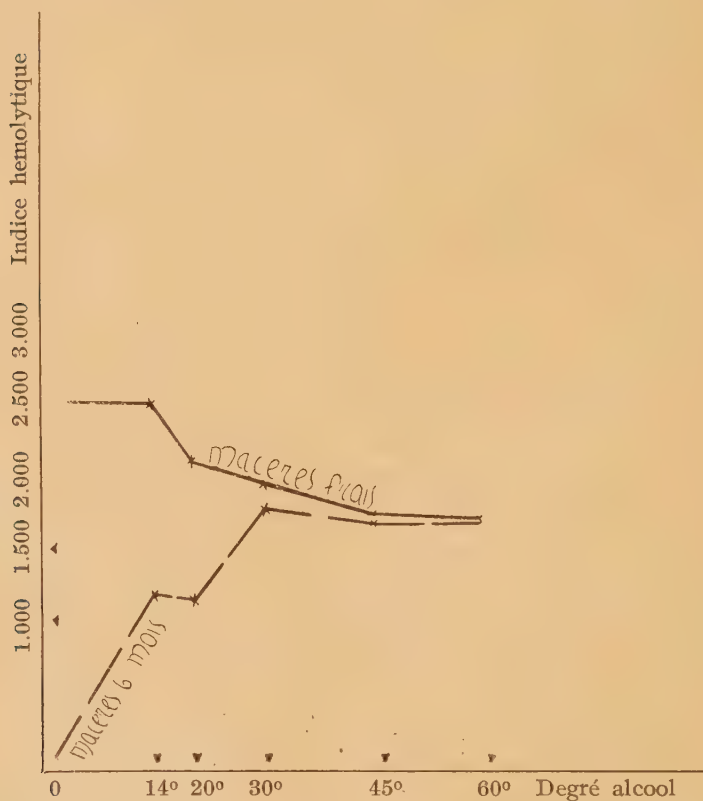
L'examen de ce tableau montre que, d'une manière générale, l'extraction de la saporubrine s'avère moins bonne en milieu alcoolique qu'en milieu aqueux et qu'elle diminue lorsque le degré alcoolique augmente. Cependant, il est à noter que le macéré obtenu avec l'alcool à 14° et le macéré aqueux préparé dans les mêmes conditions, possèdent sensiblement le même indice. Avec le macéré alcoolique à 20°, nous assistons à un fléchissement assez considérable d'indice, et ce fléchissement se poursuivra par paliers pour les macérés alcooliques à 30°, 45°, 60°.

Néanmoins, l'extraction est dans tous les cas intéressante, et nous retiendrons particulièrement les macérés à 14°, 20° et 30°.

Si maintenant, nous passons à l'étude du vieillissement des préparations alcooliques, les résultats obtenus confirment pleinement notre premier examen. En effet, nous constatons que la déperdition d'indice, qui est de 100 % pour le macéré aqueux, n'est plus que de 54 % pour le macéré alcoolique à 14°, de 47 % pour le macéré à 20°, de 8 % pour le macéré à 30°, de 4 % pour le macéré à 45° et seulement de 2 % pour le macéré à 60°.

Ainsi donc, à l'inverse de l'extraction, la conservation sera d'autant meilleure que le degré alcoolique sera plus élevé.

Ces résultats n'ont rien qui doivent nous étonner, mais ils vont nous permettre de tirer les conclusions suivantes :



GRAPHIQUE 5

Influence de l'alcool
sur l'indice hémolytique et le vieillissement

C'est d'abord la mise en évidence de l'intérêt de l'alcool à 14°. Prôné par certains auteurs, ce véhicule n'est cependant que d'un emploi restreint en pharmacie galénique. Et pourtant, après DESCHAMPS (d'Avallon), A. ASTRUC le préconise et pense que son utilisation serait souvent avantageuse, car il est doué

d'un pouvoir de dissolution analogue à celui de l'eau, tout en ayant sur celle-ci l'avantage d'assurer une bien meilleure conservation. Dans le cas particulier de la saponaire, les résultats obtenus justifient pleinement le choix de ce véhicule ; il est très vraisemblable que l'alcool à 14° puisse être préféré à l'eau, dans la préparation d'autres formes pharmaceutiques.

C'est ensuite la possibilité de préparer des teintures de saponaire, et ici, nous utiliserons de préférence l'alcool à 30° qui assurera en même temps une extraction intéressante et une bonne conservation.

Par contre, il ne semble pas qu'il y ait grand intérêt à introduire dans la pharmacopée, l'alcoolature stabilisée de saponaire. L'obtention d'une pareille préparation suppose, en effet, l'emploi d'alcools à titres variant entre 75° et 95°, et nous avons vu que les alcools à degré alcoolique aussi élevé ne permettaient qu'une extraction partielle de la saponine.

CHAPITRE DEUXIÈME

ÉTUDE DES VARIATIONS DU CHIFFRE-MOUSSE.

I. — Généralités.

Cette étude des variations du chiffre-mousse comportera un plan identique à celui qui a été suivi lors de nos recherches sur l'indice hémolytique. Autrement dit, les mêmes préparations, obtenues dans les mêmes conditions, nous serviront à déterminer à la fois et le chiffre-mousse et l'indice hémolytique.

Nous ne reviendrons pas sur les modalités d'obtention de la drogue et de ses solutés extractifs et nous en arriverons immédiatement à l'exposé de la méthode utilisée.

Avant toute chose, il convient de rappeler que le chiffre-mousse « est le degré de dilution pour lequel on obtient une colonne de mousse de 1 cm. de haut, par agitation de quinze secondes, dans un tube dont le diamètre intérieur est de 16 mm. et après un repos de quinze minutes ».

Notre matériel de travail, fort simple, comportera un certain nombre de tubes de 16 mm. de diamètre intérieur, une pipette de 10 cc. graduée au 1/10^e, une pipette de 1 cc. graduée au 1/100^e et enfin un chronomètre.

La détermination du chiffre-mousse d'une préparation se fera par tâtonnements successifs.

On commence par préparer une gamme contenant respectivement : 1 cc. - 2 cc. - 3 cc. - 10 cc. de la préparation. On complète à 10 cc. avec de l'eau distillée et après agitation suivie de repos, on mesure la hauteur des colonnes de mousse dans chacun des tubes. Ce premier essai nous permet de déterminer que le volume de préparation nécessaire, pour obtenir une colonne de mousse de 1 cm. de haut est, par exemple, inférieur à 1 cc.

On établit alors une seconde gamme entre 0 et 1 cc., la progression se faisant cette fois par $1/10^e$ de cc.

On délimite ainsi un second intervalle, qui nous permettra d'obtenir enfin une troisième gamme, dont la progression se fera cette fois par $1/50^e$ de cc.

La dilution du tube, pour lequel on aura une colonne de mousse de 1 cm. de hauteur, correspondra au chiffre-mousse de la préparation.

Si, par exemple, 0,25 cc. de macéré à 0,50 % ont été nécessaires pour obtenir cette hauteur de mousse de 1 cm., on calculera le chiffre-mousse ainsi :

10 cc. —→ 0,25 cc. de préparation de savonaire.

1 cc. —→ 0,025 cc. de préparation de savonaire.

$$\text{Dilution dans le tube} = \frac{1}{0,025} = 40.$$

Mais, comme la préparation de savonaire est déjà diluée au $1/200^e$, la dilution finale ou chiffre-mousse sera dans ce cas particulier : $40 \times 200 = 8.000$.

De là, il ressort que le chiffre-mousse sera d'autant plus faible, que le volume de préparation utilisé sera plus élevé.

Ajoutons que la manière d'agiter les tubes aura son importance. Cette agitation sera pratiquée dans le sens de la longueur du tube, par secousses successives et régulières. Bien entendu, la hauteur de mousse variera quelque peu avec le nombre de secousses et leur intensité. Il conviendra donc d'apporter dans cette opération un certain automatisme, en s'efforçant d'obtenir, dans le laps de temps de 15 secondes, un nombre constant de secousses régulières.

De plus, avant de pouvoir affirmer un résultat, il sera nécessaire de faire la moyenne de 4 ou 5 essais.

Toutefois, cette méthode telle quelle, s'est avérée d'une sensibilité insuffisante ; c'est ainsi que les macérés aqueux de 1/2 h., de 1 h., de 2 h., de 3 h., de 4 h., de 5 h. accusaient tous sensiblement le même chiffre-mousse, alors que l'hémolyse indiquait une différence notable de leur indice hémolytique.

Nous avons donc essayé de rendre cette méthode plus sensible, et pour ceci, nous avons mis à profit l'observation de Mlle BERTHIER, suivant laquelle la présence d'électrolytes exalte le pouvoir tensioactif. Il nous a semblé par conséquent, que si la dilution dans les tubes était pratiquée avec du sérum physiologique au lieu d'eau distillée, on augmenterait ainsi la hauteur de la colonne de mousse et, par suite, la sensibilité de la méthode.

Ce point de vue a été vérifié en introduisant successivement dans deux tubes, 0,40 cc. et 0,80 cc., d'un macéré de saponaire à 0,50 % et en complétant à 10 cc. avec de l'eau distillée. Le même essai a été effectué sur deux autres tubes, mais cette fois en complétant à 10 cc. avec du sérum physiologique.

Après agitation suivie de repos, nous avons mesuré la hauteur des colonnes de mousse obtenue dans chaque tube.

Le tableau VII exprime les résultats de cette expérience renouvelée à quatre reprises successives :

TABLEAU VII

Premier essai : Eau distillée

	0 cc. 40 de macéré	0 cc. 80 de macéré
Hauteur des colonnes de mousse	0 cm. 40	0 cm. 90
	0 cm. 35	0 cm. 80
	0 cm. 40	0 cm. 90
	0 cm. 45	0 cm. 80
	Moyenne : 0 cm. 40	Moyenne : 0 cm. 85

Différence : 0 cm. 85 — 0 cm. 40 = 0 cm. 45

Deuxième essai : Sérum physiologique

	0 cc. 40 de macéré	0 cc. 80 de macéré
Hauteur des colonnes de mousse	1 cm. 10	2 cm. 20
	1 cm.	2 cm.
	1 cm. 20	2 cm. 10
	1 cm.	2 cm.

Moyenne : 1 cm. 07 Moyenne : 2 cm. 07

Différence : 2 cm. 07 — 1 cm 07 = 1 cm.

Un simple coup d'œil sur ce tableau nous montre la supériorité indéniable du sérum physiologique sur l'eau distillée. Nous voyons, en effet, que pour un volume de 0,40 cc. de macéré on obtient une colonne de mousse de 0,40 cm. de hauteur avec l'eau distillée et de 1,07 cm. avec le sérum physiologique ; pour un volume de macéré de 0,80 cc., la hauteur de mousse, qui est de 0,85 cm. avec l'eau distillée, passe à 2,07 cm. avec le sérum physiologique. Par suite, pour une différence de volume de macéré de 0,80 cc. — 0,40 cc. = 0,40 cc., on note une différence de hauteur de mousse de 0,85 cm. — 0,40 cm. = 0,45 cm. pour l'eau distillée et de 2,07 cm. — 1,07 cm. = 1 cm. pour le sérum physiologique.

Ainsi donc, on assiste à un accroissement notable de sensibilité de la méthode et, dès lors, il deviendra possible d'apprécier des différences de pouvoir aphrogène imperceptibles par la méthode habituelle.

De plus, l'emploi de sérum physiologique provoque l'apparition* d'une mousse particulièrement homogène et par conséquent facile à apprécier. Enfin, cette modification de technique nous permettra d'utiliser les mêmes préparations que lors de l'hémolyse, et ainsi la détermination du chiffre-mousse pourra être réalisée simultanément à celle de l'indice hémolytique.

Bien entendu, nous n'obtiendrons pas de cette manière le chiffre-mousse réel, mais ce que nous appellerons le *chiffre-mousse modifié*. Cela n'a d'ailleurs que peu d'importance, puisque

ce qui nous intéresse, ce n'est pas tellement le chiffre-mousse en lui-même, mais plutôt les variations de l'indice-mousse d'une préparation à l'autre.

Ajoutons d'ailleurs pour terminer, que KOFLER indique déjà, dans son ouvrage sur les Saponines, qu'il utilisait les mêmes décoctés pour la mesure du chiffre-mousse et de l'indice hémolytique et, qu'à cet effet, il pratiquait les dilutions des décoctés avec du sérum physiologique.

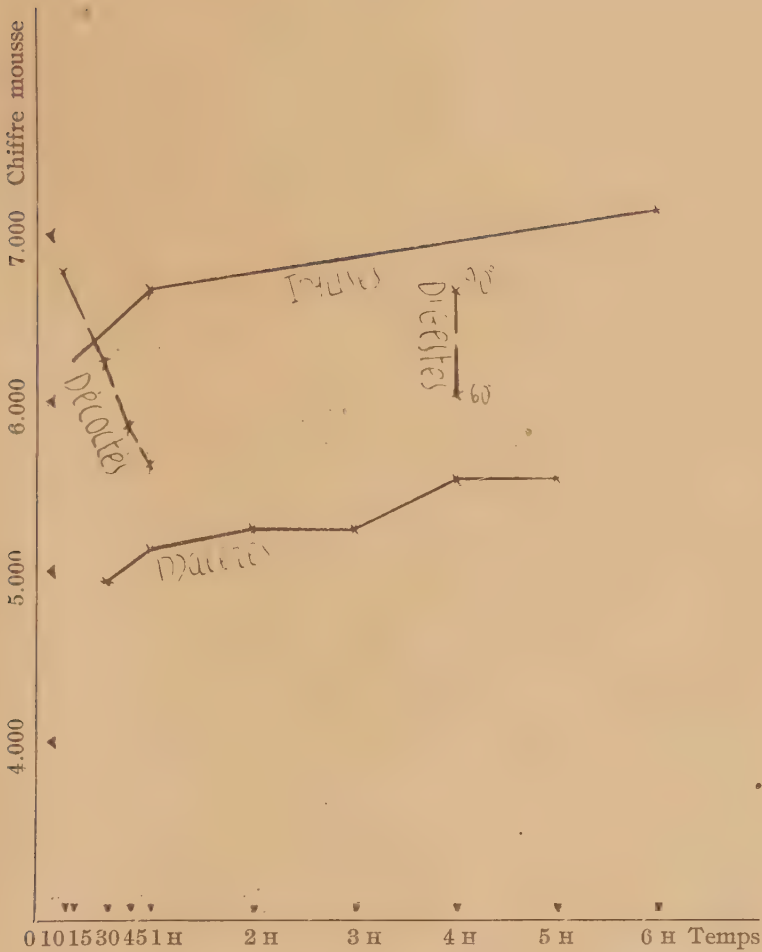
II. — Les préparations aqueuses.

a) INFLUENCE DU MODE D'EXTRACTION.

Ce chapitre sera consacré à l'étude des variations du chiffre-mousse en fonction du mode d'extraction. Nous avons eu recours aux mêmes solutés extractifs mentionnés dans le chapitre précédent ; nous ne reviendrons pas sur leur préparation et nous passerons immédiatement aux commentaires des résultats que nous avons résumés dans le tableau VIII et le graphique 6.

TABLEAU VIII

Macérés	{	½ h.	1 h.	2 h.	3 h.	4 h.	5 h.
		4.940	5.130	5.260	5.260	5.560	5.560
Infusés	{	15'	1 h.	6 h.			
		6.250	6.670	7.140			
Digestés (60°-90°) ...	{	4 h.	4 h.				
		6.060	6.670				
Décoctés	{	10'	30'	45'	1 h.		
		6.780	6.250	5.880	5.630		



GRAPHIQUE 6

Variations du chiffre-mousse
en fonction du mode d'extraction.

Nous voyons ainsi l'influence considérable du procédé d'extraction sur le chiffre-mousse. Suivant l'importance du pouvoir aphrogène de ces solutés, nous pourrions envisager 4 groupes :

1^o) L'*infusé* de 6 heures qui, ici encore, constitue le soluté extractif à préconiser.

2^o) Viendront ensuite : le *décocté* de 10 minutes, l'*infusé* de 1 heure et le *digesté* de 4 heures à 90°. Ces différentes préparations fournissent des chiffres-mousse sensiblement équivalents.

3^o) Nous trouvons ensuite le *digesté* à 60° et les *décoctés* de 30 minutes, 45 minutes, 1 heure.

4^o) En fin de liste prendra place le *macéré* qui s'avérera comme le soluté extractif le moins intéressant en tant que chiffre-mousse.

De même que pour l'indice hémolytique nous avons examiné l'action du vieillissement sur le chiffre-mousse. Nous avons donc abandonné à la température du laboratoire un infusé et un macéré de saponaire et, à intervalles réguliers, nous avons procédé à la détermination de leurs chiffres-mousse.

Le tableau IX consigne les résultats obtenus :

TABEAU IX

Vieillessement	Frais	8 jours	15 jours	30 jours	45 jours	2 mois
Macéré 5 heures	5.560	5.560	5.560	5.260	1.300	1.000
Déperdition				5 %	76 %	82 %
Infusé 1 heure	6.670	6.670	6.670	4.170	1.330	870
Déperdition				38 %	80 %	87 %

Ainsi donc nous voyons que, malgré la prolifération des moisissures dans le milieu, les préparations de saponaire sont à même de maintenir l'intégrité de leur chiffre-mousse durant un temps assez long, puisque un vieillissement de 15 jours ne permet pas de déceler une déperdition de chiffre-mousse appréciable. Par contre, entre le 15^e et le 30^e jour nous assistons à une diminution de pouvoir aphrogène de l'ordre de 5 % pour le macéré et de 38 % pour l'infusé. Ce fléchissement d'indice-

mousse ira dès lors en s'accroissant, et un vieillissement de 2 mois nous permettra d'enregistrer une perte de chiffre-mousse atteignant 82 % pour le macéré et 87 % pour l'infusé.

Ce chapitre serait incomplet s'il ne comportait pas une étude comparative des variations du chiffre-mousse et de l'indice hémolytique. Les graphiques 2 et 6 nous permettent ce rapprochement et, par un simple coup d'œil, nous pouvons déjà discerner une même allure générale de variations, avec toutefois quelques différences profondes.

Dans les deux cas, en effet, nous pouvons noter un accroissement d'indice avec le temps d'infusion et de macération pour le macéré et l'infusé, et, au contraire, une diminution pour le décocté. Cependant l'indice-mousse s'avère plus résistant aux températures extrêmes que l'indice hémolytique. Cette observation se confirme par le rapprochement des représentations graphiques des décoctés; rapprochement qui met en évidence des amplitudes de variations moins importantes pour le chiffre-mousse que pour l'indice hémolytique. En effet, tandis que le décocté de 1 heure accuse un indice-mousse légèrement supérieur à celui du macéré de 5 heures, son indice hémolytique, par contre, s'avère nettement inférieur à celui du simple macéré d'une 1/2 heure.

De plus, si nous nous reportons aux résultats obtenus avec les digestés de 4 heures à 60° et 90°, il apparaît nettement que le fait d'augmenter la température du digesté a pour conséquence un accroissement de chiffre-mousse et, au contraire, une diminution d'indice hémolytique.

Quelles peuvent être les raisons d'une pareille différence de comportement ? Un simple examen des différentes préparations utilisées nous a permis de constater que la coloration du soluté extractif est d'autant plus foncée que la température d'extraction est plus élevée. Par suite, il serait permis de supposer que l'élévation de température favoriserait et activerait la dissolution de certains principes, autres que la saporubrine, susceptibles de colorer le milieu. Ces principes seraient eux-mêmes doués de propriétés aphrogènes, ou tout au moins

seraient capables par leur seule présence d'exalter le chiffre-mousse et ainsi nous pourrions expliquer la plus grande résistance du chiffre-mousse aux températures extrêmes.

Mais le chiffre-mousse n'est pas seulement caractérisé par une plus grande résistance à la chaleur ; il est également capable de supporter avec moins de dommage l'épreuve du vieillissement. En effet, de nombreux essais nous ont permis de vérifier que la déperdition d'indice hémolytique se manifestait dès les premiers jours et qu'un vieillissement de quinze jours était suffisant pour que la valeur de l'indice primitif subisse une diminution de 50 à 80 %. Nous avons vu qu'au contraire, durant ce laps de temps, le chiffre-mousse maintenait son intégrité. Evidemment, le pouvoir aphrogène marque par la suite un fléchissement de plus en plus considérable, mais toujours beaucoup moins important que ne le fait l'indice hémolytique, si bien qu'il existe un moment où l'indice hémolytique sera nul, alors que le chiffre-mousse conservera encore une valeur appréciable. C'est ainsi, par exemple, qu'un décocté vieux de 2 mois ayant perdu toute trace d'indice hémolytique, accusait encore un chiffre-mousse de 2.220.

b) INFLUENCE DU pH.

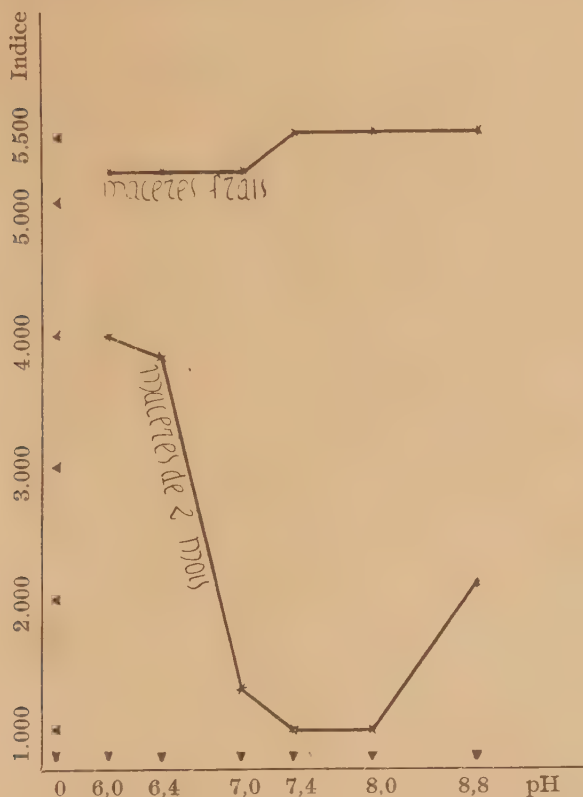
Ici encore, grâce à l'emploi de sérums physiologiques à pH variables, nous avons pu obtenir des macérés de 5 heures et à 0,50 % de saponaire, dont les pH correspondaient aux valeurs suivantes : 6,0 - 6,4 - 7,0 - 7,4 - 8,0 - 8,8.

Les chiffres-mousse de ces différentes préparations ont été déterminés une première fois à l'état frais, une seconde fois après vieillissement de 2 mois. Le tableau X et le graphique 7 mettent en relief les résultats obtenus :

TABLEAU X

pH	6,0	6,4	7,0	7,4	8,0	8,8
Macéré frais	5.260	5.260	5.260	5.560	5.560	5.560
Macéré 2 mois	4.000	3.800	1.330	1.000	1.000	2.130
Déperdition	25 %	27 %	75 %	82 %	82 %	62 %

Ainsi donc, le pH semble n'avoir qu'une influence relative sur le pouvoir aprotogène des préparations fraîches de saponaire ; c'est tout juste si l'on peut enregistrer une légère supériorité d'indice-mousse chez les macérés à réaction alcaline.



GRAPHIQUE 7

Influence du pH
sur le chiffre-mousse et le vieillissement.

Par contre, la déperdition de chiffre-mousse avec le vieillissement, sera plus ou moins considérable suivant le pH du soluté extractif. C'est ainsi que cette déperdition qui oscille

autour de 80 % pour des pH compris entre 7,0 et 8,0, n'est plus que de 62 % pour un pH de 8,8, de 27 % pour un pH de 6,4 et enfin 25 % pour un pH de 6,0.

Nous aurons donc intérêt, lors de la préparation des solutés extractifs de saponaire, à utiliser de préférence des véhicules ajustés à des pH assurant une bonne conservation. A cet effet, nous préconiserons les pH oscillant autour de 6,0.

Comme nous l'avons fait plus haut, nous terminerons ce chapitre, par une étude comparative du chiffre-mousse et de l'indice hémolytique en nous plaçant au point de vue pH.

L'influence de ce facteur s'avérera différente, suivant que l'on aura affaire à des préparations récentes ou anciennes.

Dans le cas des macérés frais, le pH provoquera des fluctuations peu importantes ou nulles du chiffre-mousse ou de l'indice hémolytique et un simple rapprochement des graphiques 3 et 7, met ce fait en évidence.

Bien au contraire, l'influence de ce même pH prendra de l'importance, lorsqu'on aura affaire à ces mêmes préparations vieilles de 2 mois. Nous avons récapitulé dans le tableau XI les résultats des graphiques 3 et 7, de manière à pouvoir comparer les déperditions respectives du chiffre-mousse et de l'indice hémolytique après un vieillissement de 2 mois :

TABLEAU XI

pH	6,0	6,4	7,0	7,4	8,0	8,8
Déperdition d'indice hémolytique	53 %	78 %	97 %	97 %	98 %	93 %
Déperdit. de chiffre mousse	25 %	27 %	75 %	82 %	82 %	62 %

L'examen de ce tableau montre pour chaque pH considéré une déperdition nettement plus forte pour l'indice hémolytique que pour le chiffre-mousse ; une fois de plus nous confirmons notre observation d'une plus grande résistance au vieillissement de la part de l'indice-mousse. Mais nous voyons, en outre,

que si les pH acides semblent favoriser à la fois la conservation du pouvoir aphrogène et du pouvoir hémolytique, par contre, seule la conservation du chiffre-mousse paraît être influencée assez favorablement par des pH alcalins.

En résumé, nous aurons avantage, toutes les fois que nous voudrions réduire au minimum les déperditions de chiffre-mousse et d'indice hémolytique, à nous maintenir à des pH légèrement acides (6,0 et 6,4).

III. — Les préparations alcooliques.

Nous avons eu recours dans ce cycle d'expériences à des macérés alcooliques de saponaire de 5 heures à 0,50 % et aux titres suivants : 14° - 20° - 30° - 45° - 60°. Nous avons pensé, d'autre part, qu'il pourrait être intéressant de comparer les chiffres-mousse de ces solutés alcooliques à l'indice-mousse obtenu avec le macéré aqueux de 5 heures et à 0,50 % de cette même drogue.

Il convient cependant, avant de pousser plus loin nos investigations, de tenir compte du pouvoir antiaphrogène de l'alcool. Nous savons, en effet, que ce solvant est capable, par sa seule présence, de modifier et même, à concentration suffisante, d'annuler complètement le chiffre-mousse d'une préparation de saponine. Dès lors, il était indispensable de déterminer dans quelles mesures, le pouvoir aphrogène d'une préparation alcoolique de saponaire pouvait être faussé par la propriété anti-aphrogène de l'alcool.

Un essai préliminaire, effectué avec le macéré aqueux de saponaire, nous a permis de constater qu'un volume de 0,36 cc. de ce macéré, complété à 10 cc. par addition de 9,64 cc. de sérum physiologique, fournissait après agitation de 15 secondes, suivie d'un repos de 15 minutes, une colonne de mousse de 1 cm. de hauteur.

Si on reprend le même essai, mais en complétant à 10 cc. non plus par addition de 9,64 cc. de sérum physiologique, mais

à l'aide de 7,54 cc. de ce même sérum + 2,10 cc. d'alcool à 96°, on observe, cette fois, la formation d'une mousse fugitive qui disparaît instantanément. Autrement dit, le pouvoir aphrogène d'un pareil mélange est nul.

D'autre part, la détermination des chiffres-mousse des macérés alcooliques, nous a permis de préciser que les volumes nécessaires à l'obtention d'une colonne de mousse de 1 cm., correspondaient respectivement à 0,28 cc. pour le macéré à 14°; 0,24 cc. pour le macéré à 20°; 0,22 cc. pour le macéré à 30°, et 0,20 cc. pour les macérés à 45° et 60°.

Dès lors, en faisant intervenir ces mêmes quantités d'alcool utilisées, nous avons préparé une gamme de 6 tubes contenant chacun 0,36 cc. de macéré aqueux additionnés de sérum physiologique et d'alcools à titres variables dans les proportions ci-après :

1^{er} tube : + 9 cc. 64 de sérum physiologique

2 ^e »	: + 9 cc. 44	»	»	+ 0 cc. 20	d'alcool à 60°
3 ^e »	: + 9 cc. 44	»	»	+ 0 cc. 20	» 45°
4 ^e »	: + 9 cc. 42	»	»	+ 0 cc. 22	» 30°
5 ^e »	: + 9 cc. 40	»	»	+ 0 cc. 24	» 20°
6 ^e »	: + 9 cc. 36	»	»	+ 0 cc. 28	» 14°

Après agitation et repos, nous avons mesuré les hauteurs de mousse dans chacun des tubes. Toutes atteignaient 1 cm. et, par conséquent, ces 6 essais différents ont donné tous un résultat identique.

Il s'ensuit que les quantités d'alcool intervenant dans la détermination des chiffres-mousse des macérés alcooliques sont trop faibles pour influencer en quoi que ce soit les résultats.

Cette constatation n'a d'ailleurs rien qui puisse nous étonner, si l'on a soin d'exprimer en alcool absolu les quantités d'alcool utilisées. Nous avons vu que 2,10 cc. d'alcool à 96°, autrement dit 1 g. 601 d'alcool absolu, à la température de 15°, étaient nécessaires et suffisants pour empêcher la formation de toute mousse. Or, pour les macérés à 60°, 45°, 30°, 20°, 14°, les quantités d'alcool absolu, exprimées en grammes, qui intervenaient, étaient respectivement de l'ordre de 0,095 g. ; 0,071 g. ;

0,052 g. ; 0,038 g. et 0,031 g. On voit donc que pour que le chiffre-mousse puisse être modifié ou annulé par la présence de l'alcool, il est nécessaire que la concentration en alcool absolu atteigne un certain taux. Si l'on a soin de se maintenir au-dessous de ce taux, l'influence de l'alcool peut être considérée comme nulle. Autrement dit, on aura avantage à faire intervenir dans la détermination du chiffre-mousse de nos macérés alcooliques de saponaire, un volume de préparation aussi réduit que possible. Par conséquent, ici encore, l'emploi du sérum physiologique devra être préféré à l'utilisation de l'eau distillée, car le volume de macéré que nous ferons intervenir de cette manière sera réduit de plus de la moitié et nous éviterons ainsi le pouvoir antiaphrogène de l'alcool.

Nous avons consigné dans le tableau XII et représenté à l'aide du graphique 8 les variations de chiffre-mousse chez les divers macérés alcooliques considérés. Les déterminations de chiffre-mousse ont été faites d'abord sur des macérés frais, ensuite sur des macérés datant de 6 mois.

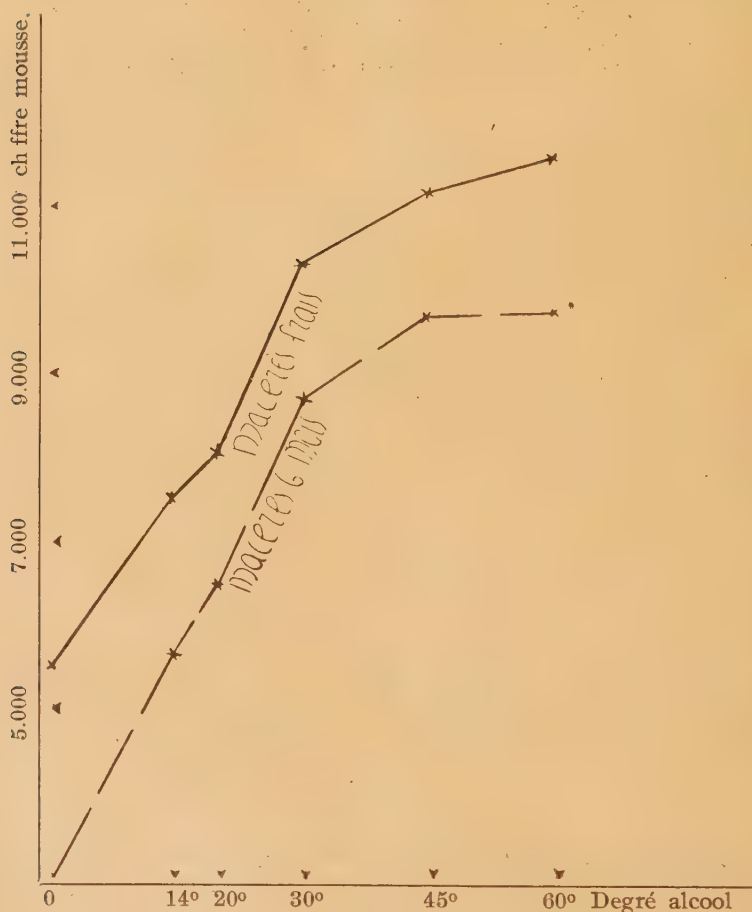
TABLEAU XII

Degré alcoolique ...	0°	14°	20°	30°	45°	60°
Macéré frais	5.560	7.540	8.020	10.360	11.160	11.520
Macéré 6 mois	0	5.660	6.490	8.630	9.630	9.660
Déperdition	100 %	22 %	19 %	17 %	14 %	14 %

D'une manière générale, le chiffre-mousse est d'autant plus considérable que le macéré alcoolique a un titre plus élevé.

C'est ainsi que déjà le macéré alcoolique à 14° est doué d'un pouvoir aphrogène nettement plus important que celui du simple macéré aqueux. Avec le macéré à 20°, nouvelle augmentation du chiffre-mousse ; cet accroissement se poursuivra et s'accroîtra pour les macérés alcooliques à 30°, 45°, 60°. Il est cependant à remarquer qu'au fur et à mesure que le degré alcoolique s'élève, l'augmentation de l'indice se réduit chaque fois davantage, et il semble que l'on n'ait pas grand intérêt à utiliser des titres alcooliques supérieurs à 45° ou 60°.

Si maintenant nous considérons les résultats obtenus avec ces mêmes macérés vieux de 6 mois, nous sommes amené à



GRAPHIQUE 8

Influence de l'alcool
sur le chiffre-mousse et le vieillissement.

constater la supériorité incontestable des préparations alcooliques sur les préparations aqueuses au point de vue conser-

vation. C'est ainsi qu'un vieillissement de 6 mois suffit à supprimer tout pouvoir aphrogène chez le macéré aqueux à $\text{pH} = 7.4$. Cette déperdition est incomparablement plus faible avec les macérés alcooliques, et ceci d'autant plus que le degré alcoolique est plus élevé. Avec le macéré alcoolique à 14° , ce fléchissement n'atteint plus que 22 % et passe à 19 % pour le macéré à 20° , à 17 % pour le macéré à 30° et enfin à 14 % pour les macérés à 45° et 60° .

Nous voyons ainsi l'intérêt des préparations alcooliques de saponaire qui s'avèrent supérieures aux préparations aqueuses, à la fois par leur pouvoir aphrogène et par leur conservation.

Nous terminerons, encore une fois, ce chapitre, par une étude comparative du chiffre-mousse et de l'indice hémolytique en milieu alcoolique.

Le simple rapprochement des graphiques 8 et 5 nous permet de constater de prime abord une différence considérable dans l'allure des représentations schématiques. En effet, du côté indice hémolytique, nous assistons à un fléchissement progressif avec le degré alcoolique, tandis que du côté chiffre-mousse, nous assistons, au contraire, à un accroissement.

Or, l'étude hémolytique des macérés alcooliques de saponaire nous a permis de préciser que l'extraction de la saporubrine était d'autant plus faible que le degré alcoolique de la préparation était plus élevé ; si donc, la saporubrine était le seul élément participant à la formation de mousse, nous devrions assister à une diminution concomitante du chiffre-mousse et de l'indice hémolytique.

Nous sommes donc amené à renouveler une observation antérieure : il est probable que la saporubrine n'est pas le seul principe de la saponaire qui intervienne dans la formation de la mousse ; nous savons que le chiffre-mousse peut être influencé par une foule de facteurs et, par suite, il semblerait que l'alcool dissolve, en même temps que la saporubrine, certains autres principes doués de propriétés aphrogènes, ou tout au moins susceptibles d'exalter le chiffre-mousse.

Si maintenant nous voulons passer à l'étude comparative

du chiffre-mousse et de l'indice hémolytique chez les macérés alcooliques datant de 6 mois, nous aurons avantage à rapprocher les résultats dans le tableau XIII :

TABLEAU XIII

Degré alcoolique ...	0°	14°	20°	30°	45°	60°
Déperdition d'indice						
hémolytique	100 %	54 %	47 %	8 %	4 %	2 %
Déperdit. de chiffre						
mousse	100 %	22 %	19 %	17 %	14 %	14 %

Ainsi donc, la conservation du chiffre-mousse s'avère meilleure que celle de l'indice hémolytique pour les macérés alcooliques à 14° et 20° et moins bonne, au contraire, pour les macérés alcooliques à titres plus élevés. Si, en particulier, on envisage le macéré alcoolique à 60°, on constate que la déperdition de chiffre-mousse atteint 14 %, alors que la déperdition d'indice hémolytique est de 2 % seulement.

Si maintenant on se livre à un examen attentif de l'aspect de ce macéré, on est amené à constater la présence au fond du flacon, d'un léger dépôt pulvérulent et cette observation viendrait, par suite, consolider notre point de vue sur le chiffre-mousse des préparations de saponaire. En effet, ce dépôt ne serait pas constitué essentiellement par de la saporubrine, puisque la déperdition d'indice hémolytique s'avère minime, mais plutôt par d'autres substances capables d'influencer le pouvoir aphrogène et ainsi on pourrait expliquer le fléchissement du chiffre-mousse enregistré.

ADDENDUM

ÉTUDE DE LA TOXICITÉ.

Nous avons voulu compléter cette étude sur la saponaire, par celle de la toxicité de la drogue. Nous avons vu la sensibilité particulière que manifestaient les poissons à l'égard des saponines ; nous nous sommes donc procuré un certain nombre de poissons de mer de l'espèce *Antherina Boyeri* Riss (Antherine de Boyer Joël), plus connue dans nos régions sous les noms vulgaires de tjol ou chol ; ces poissons offrent le double avantage de constituer une espèce commune et de petite taille, leur poids excédant rarement 2 g. De plus, ils sont capables de supporter des variations de milieu assez considérables puisqu'ils vivent aussi bien dans la mer que dans les canaux qui y débouchent.

Nous avons, d'autre part, préparé un infusé à 2,5 % et durant 6 heures, de saponaire ; en outre, nous avons additionné ce soluté extractif de chlorure de sodium en proportions convenables, afin de ne pas trop éloigner le poisson de ses conditions de vie habituelles.

Dès lors, chronomètre en main, nous nous sommes efforcé de saisir les phénomènes d'intoxication.

A peine plongé dans le soluté, le poisson manifeste une vive agitation et se meut avec rapidité dans le bocal. Il se maintient et se maintiendra en surface durant toute la durée de l'intoxication.

Cette phase excède rarement 30 ou 40 secondes ; elle ne tarde pas à être suivie d'une seconde phase caractérisée par une immobilité relative et entrecoupée de temps en temps par quelques mouvements brusques.

Mais voici que survient la troisième phase, marquée par une série de sauts du poisson. Tout se passe comme si l'animal voulait échapper au milieu qui l'intoxique :

La phase ultime ne tarde pas à surgir. Les sauts se font plus rares, plus difficiles et l'immobilité gagne l'animal, qui ne réagit même plus aux excitations extérieures ; les mouvements des branchies, accélérés d'abord, s'affaiblissent de plus en plus, pour cesser bientôt tout à fait, et la mort survient dans cette attitude.

De nombreux essais nous ont permis de constater que la durée de l'intoxication était de 10 minutes environ et de vérifier que, d'une manière générale, elle était d'autant plus rapide que la préparation de saponaire avait un indice hémolytique plus élevé.

D'ailleurs, cette dernière observation n'a rien de surprenant, car la détermination hémolytique d'une saponine suffit à elle seule à donner des indications sur sa toxicité. En effet, nous avons vu que seules les saponines neutres sont vraiment toxiques et hémolytiques. On discerne ainsi le lien qui unit l'indice hémolytique et la toxicité et, dès lors, nous ne nous étonnerons pas de ce que la saponaire, qui contient une saponine neutre : la saporubrine, soit douée d'une certaine toxicité.

CONCLUSIONS

En un bref résumé, notre première partie constitue une sorte de mise au point de nos connaissances actuelles sur la saponaire officinale. Nous n'y reviendrons pas. Indiquons simplement que ces recherches bibliographiques nous ont montré tout l'intérêt de l'indice hémolytique et du chiffre-mousse comme moyens de diagnose de la valeur de la saponaire.

Quant aux résultats obtenus au cours de nos recherches personnelles, ils constituent la seconde partie de notre travail, et nous ont permis de tirer quelques conclusions intéressantes :

1^o) Les préparations aqueuses qui ont l'indice hémolytique le plus élevé, sont celles obtenues en faisant intervenir une chaleur douce, procédé qui donne de meilleurs résultats que la macération à température ordinaire ou que la décoction. Nous préconisons donc les infusés de longue durée et les digestés à température moyennement élevés (60°-70°).

De plus, on utilisera la lixiviation à froid, et surtout la lixiviation à chaud (60°-70°), telle qu'elle est préconisée et pratiquée au Laboratoire de Pharmacie galénique de notre Faculté depuis de nombreuses années.

2^o) Lorsqu'on veut déterminer l'indice hémolytique d'une plante à saponine, il est habituel d'avoir recours à un décocté d'une 1/2 heure de cette drogue. Or, il ressort de la première partie de nos conclusions que ce choix n'a rien de particulièrement indiqué. Sans doute serait-il intéressant de renouveler les expériences d'ensemble que nous avons effectuées avec la

Saponaire, en utilisant cette fois d'autres drogues à saponine (Marron d'Inde, Salsepareille, etc...). C'est alors seulement que l'on pourrait adopter ou rejeter définitivement le choix du décocté et envisager s'il ne conviendrait pas de lui préférer l'infusé ou le digesté à 60°-70°.

3°) Nous avons vérifié, à la suite de nombreux auteurs, que le sang de mouton subissait d'énormes variations de résistance globulaire avec le pH ; dans le cas particulier de la Saponaire, le maximum de résistance est atteint, semble-t-il, pour un pH compris entre 7,4 et 8,8. D'où la nécessité de se maintenir dans ces limites pour la détermination de l'indice hémolytique des préparations de Saponaire.

4°) Les préparations aqueuses de Saponaire se conservent mal, ce qui se traduit par une diminution considérable de leur indice hémolytique avec le temps. Nous avons atténué cet inconvénient par l'emploi d'un véhicule extractif légèrement acide (pH = 6,0-6,4) ; il est à noter, d'autre part, que le pH (tout au moins dans le voisinage de la neutralité) n'intervient pas dans l'épuisement de la drogue ; ce facteur n'a donc une action manifeste que dans la conservation du soluté.

5°) Nous pensons avoir mis au point une méthode d'hémo-lyse en milieu alcoolique susceptible, peut-être, de recevoir des applications pratiques. Elle consiste essentiellement à abaisser le titre de la préparation alcoolique à 14° ou au-dessous et à observer les conditions d'isotonicité. Nous avons montré, en effet, que dans cette occurrence, l'alcool n'influçait pas le phénomène hémolytique.

6°) L'extraction de la saporubrine par l'alcool est d'autant plus faible que le titre de ce solvant est plus élevé et, de ce fait, l'alcool au point de vue extractif est inférieur à l'eau.

Par contre, les préparations alcooliques de Saponaire s'avèrent d'une conservation infiniment supérieure à celle des préparations aqueuses. C'est pourquoi nous avons envisagé la possibilité de confectionner des teintures de Saponaire à condition de se maintenir à un titre alcoolique peu élevé (30°).

7^o) Nous pensons avoir mis en évidence la supériorité du sérum physiologique sur l'eau, comme liquide de dilution, toutes les fois qu'il s'agit d'étudier les variations de chiffre-mousse. Par l'emploi de ce véhicule, non seulement on assiste à une augmentation de sensibilité dans la mesure de l'indice-mousse, mais aussi on peut procéder simultanément, avec les mêmes préparations, à la détermination de l'indice hémolytique et du pouvoir aphrogène.

8^o) Le chiffre-mousse s'avère notablement plus résistant à l'épreuve de la chaleur et du vieillissement que l'indice hémolytique.

9^o) D'autre part, tout comme l'indice hémolytique, le chiffre-mousse n'est que très peu influencé par les variations de pH. Toutefois, il est à remarquer que l'utilisation de véhicules extractifs légèrement acides permet d'augmenter la conservation du pouvoir aphrogène.

10^o) Les préparations alcooliques de Saponaire, et principalement celles obtenus avec les alcools à 45° et 60°, donnent un chiffre-mousse nettement plus élevé que celui des préparations aqueuses ; dans les mêmes conditions, nous l'avons vu, l'indice hémolytique est fortement diminué. D'autre part, dans les préparations alcooliques, le chiffre-mousse ne diminue que fort peu avec le temps.

11^o) Les quelques essais que nous avons entrepris sur les poissons nous ont permis de contrôler la toxicité réelle de la Saponaire et de vérifier que cette toxicité varie dans le même sens que l'indice hémolytique.

12^o) L'ensemble des conclusions précédentes, nous fait entrevoir la possibilité de confectonner des succédanés de savon à partir de macérés de saponaire dans l'alcool à 50° environ ; cette façon d'opérer permettrait, en effet, d'obtenir des préparations à pouvoir aphrogène élevé et à indice hémolytique relativement faible.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- [1] ANNEAU (E.) et HERGLOZ (J.). — Accélération de la résorption et de la potentialisation des alcaloïdes et des sels par la saponine. (*Bull. Sc. Pharm.*, 1928, 35, p. 638.)
- [2] ANNEAU (E.) et HERGLOZ (J.). — (*Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, 1927, 127, 93.)
- [3] AREMA : cf. GUICHARD (R.). — Essai d'introduction à l'étude pharmacodynamique des saponines (p. 36).
- [4] ASTRUC (A.) et GIROUX (J.). — Les saponines en Pharmacie. (*Bull. Sc. Pharm.*, 1936, II, 648.)
- [5] BALANSARD (J.). — Sur les caractères de solubilité et de précipitation de quelques saponines. (*Bull. Pharm. S.-E.*, 1939, I, p. 18.)
- [6] BARGER. — *Chem. News*, 90, p. 183. — La saporanine glucoside se colorant en bleu par l'iode. (*Journ. Pharm. et Chimie*, 1904, 2), p. 431.)
- [7] BECHOLD (H.). — Hémolyse des saponinés. (*Munch. Med. Wechenschr.*, 1921, 68, 127.)
- [8] BERGIUS. — *Materia medica e regno vegetabili*. (Stocholmiae, 1778.)
- [9] BERTHIER (Mlle). — Action des électrolytes sur la tension superficielle des solutions de saponines. (*C. R. Ac. Sc.*, 1938, 206, p. 1760.)
- [10] BOERHAVE. — *Elementa chimiae*. (London, 1732, II, pp. 13 et 16 ; Bâle, 1754, II, pp. 33-35.)
- [10 bis] BONNIER (Gaston). — Flore complète illustrée et en couleurs. (1934, II, 40.)
- [11] BOURCET et CHEVALIER. — *Bull. Sc. Pharm.*, 1905, II, p. 262.)

- [12] BRACONNOT. — *Journ. de Phys.*, 1817, t. LXXXIV; cf. LOQUE (Marius) : De la saponaire et de la saponine (p. 24).
- [13] BUCHOLTZ cf. LOQUE (Marius). — De la saponaire et de la saponine (p. 24).
- [14] COMBES (R.). — Sur une méthode générale de recherche micro-chimique et son application à l'étude de la répartition des saponines chez les végétaux. (*C. R. AC. Sc.*, 1907, 145, 1431 ; *Journ. Pharm. et Chimie*, 1908, 27, 247.)
- [15] COMMANDON (J.), FONBRUNE (P. DE) et WEILL (R.). — Comment s'effectue la sortie de l'hémoglobine dans l'hémolyse ? (*C. R. Soc. Biol.*, 1926, 95, p. 635.)
- [16] CONRARD. — Recherches botaniques et chimiques sur deux graines de la famille des sapindacées. (*Thèse Pharmacie*, Paris, 1913.)
- [17] CHRISTOPHSON. — Vergleichende untersuchungen uber das saponin der wurzel von « gypsophila struthium », der wurzel von « Saponaria officinalis », und der reifen samen von « Agrostemma githago ». (*Arch. der Pharm.*, 1875, 206, 436.)
- [18] DOUMIE (J.) et MARTIN-SANS (E.). — *Bull. Sc. Pharm.*, 1922, 29, p. 379.
- [19] DIACONO (H.). — Le phénomène hémolytique ; contribution à l'étude de l'hémolyse. (*Thèse Pharmacie*, Montpellier, 1933.)
- [20] FISCHER (R.). — Uber den Saponinnakweiss durch blutegelatine. (*Pharm. Monat.*, 1930, 56, 282-316 ; *Bull. Soc. Chim.*, 1932, LII, p. 705.)
- [21] FISCHER (R.). — Uber den mikroskopischen durch blutegelatine. (*Pharm. Monat.*, 1928, 9, 1, 5-25-27.)
- [22] FOURNIER (J.). — Étude pharmacologique des graines de « *Dumoria Heckeli* » A. Chev. et du « *Baillonella toxisperma* » Pierre. (*Thèse Doct. Méd.*, Montpellier, 1913.)
- [23] GMELIN. — *Handb. d. Theo. chemic.*, 1819, 3, 1325.
- [24] GREENE. — *Amer. Journ. of Pharmacy*, 1878, 50, 250-465.
- [25] GUICHARD (Raoul). — Essai d'introduction à l'étude pharmacodynamique des saponines. (*Thèse Médecine*, Paris, 1939.)
- [26] HÉDON (E.). — *Arch. intern. de Pharmacodyn. et de Thérap.*, 1901, 8, pp. 381-407.
- [27] HÉDON (E.). — *Arch. intern. de Pharmacodyn. et de Thérap.*, 1901, 9, pp. 393-406.

- [28] HANOVSKY (H.) et TROSSEL. — *Arch. Journ. exper. Pathol. u. Pharmacol.*, 1926, 117, p. 347.
- [28 bis] HENK (H.-J.). — La saponine comme adjuvant dans l'Industrie textile. (*Kellwolle - Zunstseide - Seide*, mars 1942, 47, 131 ; *Bulletin analytique* (Centre national de Recherche scientifique, vol. III, n° 7, 2^e partie, sections P - V, p. 297.)
- [29] JAKOBSON cf. GUICHARD (R.). — Essai d'introduction à l'étude pharmacodynamique des saponines (p. 42), 1939.
- [39] JOLLY (J.). — *Traité technique d'hématologie*. (2 vol., I, 1131 pages, 1923, Maloine éditeur, Paris.)
- [1] KOBERT (R.). — Sur la microchimie d'*Agrostemma githago* L. (*Pharm. Post.*, 1892, 25, 203.)
- [32] KOBERT (R.). — *Beitrag z. Kenntniss d. Saponinsubstanzen*. (1 vol., Stuttgart, 1904.)
- [33] KOBERT (R.). — Die saponine. (*Biochemisches handlexicon herausgegeben von E. Abderhalden*, Berlin, J. Springer, 1912, 7, 45.)
- [34] KOFLER (L.). — Die saponine. (1 vol., Julius Springer ed., Vienne, 1927.)
- [35] KOFLER (L.). — Sur la détermination des saponines en tant que productrices de mousse. (*Chem. zegl.*, 1927.)
- [36] KOFLER (L.) et FISCHER (R.). — Action de la saponine sur l'absorption du curare. (*Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm.*, 1906, 116, pp. 35-38.)
- [37] KOFLER (L.) et FISCHER (R.) cf. GUICHARD (R.). — Essai d'introduction à l'étude pharmacologique des saponines (p. 55), 1939.
- [38] KOFLER (L.) et FISCHER (R.). — La narcose par le magnésium, déterminée par l'absorption de sulfate de magnésie et de saponine. (*Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm.*, 1928, 130, pp. 319-322.)
- [39] KOFLER (L.) et KAURECK (R.). — *Arch. f. exper. Path. u. Pharm.*, 1925, 109, p. 362.
- [40] KOFLER (L.) et LAZAR. — Influence de l'ion hydrogène sur l'hémolyse de la saponine. (*Arch. der Pharm.*, 1927, 265, pp. 610-623.)
- [41] KORSAKOFF (Mlle). — Recherches sur les méthodes de dosage des saponines. (*C. R. Ac. Sc.*, 1912, 155, 844.)
- [42] KRUSKAL. — *Jahr ch.*, 1891, p. 2187.)
- [43] KRUSKAL. — *Gypsophila-saponine Arbeiten d. Pharm. Institut zu Dorpat*. (1891, 6, 15.)

- [44] LASCH (F.) et BRUGEL (S.). — *Arch. exp. Pathol. u. Pharm.*, 1926, 116, p. 7; *Bull. Sc. Pharm.*, 1928, 33, p. 74.
- [45] LASCH (F.), BERGER-TRAPPER et FISCHER cf. GUICHARD (R.). — Essai d'introduction à l'étude pharmacologique des saponines (p. 55), 1939.
- [46] LECLERC (Henri). — Pharmacologie de la saponaire. (*La Presse médicale*, 1942, n^{os} 9 et 10, 114.)
- [47] LOQUE (Marius). — De la saponine et de la saponaire. Paris. (*Thèse de Pharmacie*, 1882.)
- [48] LUMIÈRE (A.) et GRANGE (Mme R.-H.). — Sur les propriétés du sérum des animaux traités par certaines substances hémotiques non protéiques. (*C. R. Soc. Biol.*, 1929, 101, 1-149.)
- [49] MASSON. — Recherches sur quelques plantes à saponine. (*Thèse Pharmacie*, Paris, 1910.)
- [50] MERAT et LENS (DE). — Dictionnaire universel de matière médicale et de thérapeutique générale. (1834, 6, 220.)
- [50 bis] MEYER. — Uber lactosine. (*Ber. ges.*, 1884, 17, p. 642.)
- [51] MOND-PFLUGERS. — *Arch. f. d. ges. Physiol.*, 1925, 208, 574; 1925, 208, 499.
- [51 bis] MOREAU (E.). — Manuel d'Ichtyologie française. (1892, p. 396.)
- [52] MOYCHO — Rôle physiologique des saponines. (*Revue gén. de Botanique*, 1920, 32, 245.)
- [53] NETIEN. — Recherches sur les glucides et les saponines des Caryophyllacées. (*Thèse Pharmacie*, Lyon, 1935.)
- [54] OVERTON (E.). — Lunds Universitats Arsskrift N. F. afd. 2, Bd 9, Nr 7; KOFER (L.) : Die saponine (p. 51), 1927.
- [55] OVERTON (E.). — Lunds Universitets Arsskrift N. F. abt. 1913, 2, 9-11.
- [55 bis] PLANCHON (G.) et COLLIN (E.). — Les drogues simples d'origine végétale. (1896, II, 764.)
- [56] PONDER et KEMEDY. — The inhibitory effect of the sugars on saponina haemolysis. (*Biochem. Journ.*, 1926, 20, 237; 1925, 19, 318.)
- [56 bis] RATHERY (F.), DEROT (M.) et TRAVERSE (DE) P.-M. — Sur l'hypoglycémie consécutive à l'absorption digestive de l'insuline. (*Acad. Sc.*, 30 janvier, 1939.)

- [57] RAYBOT. — Contribution à l'étude pharmacologique des salsepareilles. (*Thèse Pharmacie*, Marseille, 1938.)
- [58] RICHOU (R.) et THIBAUT (P.). — Augmentation de la production de l'antitoxine tétanique chez le cobaye, par addition à l'anatoxine spécifique de quantités variables de saponine. (*C. R. Soc. Biol.*, 1936, 121, 748.)
- [59] ROCHLEDER. — *Jahr ch.*, 1867, p. 748.
- [60] RYWOSCH-PFLUGERS. — *Arch. f. d. ges. Physiol.*, 1907, 116, 239, 1922, 196, 643, et *Zentrall. f. Physiol.*, 1911, 25, 348.
- SCHIAPARELLI. — Sur saponine des Caryophyllacées. (*Ann. di Chim. applica. alla farm.*, 1883, 77, 65.)
- [62] SCHULTZ. — Ein beitrage zur kenntniss der roten seifunwursel. (*Arbeit Pharm. Institut Dorpat*, 1896, 14, 1; *Chem. zent.*, 1897, 1, 302 446.)
- [63] SIEBURG (E.) et BACKMANN (F.). — *Biochem. zeischr.*, 1921, 126, 130; *Bull. Soc. Chim.*, 1923, 34, 950.
- [64] STORTENBEKER (W.). — *Chem. Weckblad*, n° 7, p. 264, d'après *Chem. zentralbl.*, 1910, 1, 1316; KOFLER : Die saponine, p. 49.
- [65] TIFFENEAU cf. GUICHARD (R.). — Essai d'introduction à l'étude pharmacodynamique des saponines, p. 19, 1939.
- [66] ULZER (F.) et KAAS (W.). — Sur une nouvelle caractérisation des saponines. (*Chem. Monat.*, 1934, 15, 95.)
- [67] VAN DER HAAR. — Recherches sur les saponines et les substances analogues. (*Rev. Trav. Chim. Pays-Bas*, 1927, 46, 85-86 et 46, 775-796-798.)
- [67 bis] VAN OS (M.-D.). — Acides biliaires, stérines, saponines neutres, poisons cardiaques, hormones et vitamines, et leurs liens de parenté chimique. (*Journ. Pharm. et Chimie*, 1938, 28, p. 115.)
- [68] VILLEDIEU (Anne-Marie). — Contribution expérimentale à l'étude pharmacodynamique des saponines. (*Thèse Pharmacie*, Toulouse, 1939.)
- [69] WALBUM. — Die bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für die hämolyse. (*Biochem. Zeitf.*, 1914, 610-623.)
- [70] WASICKY (R.). — Test pour l'hémolyse des saponines. (*Pharm. Post.*, 1913, 46, 989.)

- [71] WEDEKING (E.) et SCHICKE (W.). — *Z. Physiol. Ch.*, 1929, 182, p. 72; *Journ. Pharm. et Chimie*, 1931, 14, p. 131.
- [71 bis] WILDE (DE).— Orderzoekingen over de verdeeling der saponinens bij *Agrostemma Githago* en *Saponaria officinalis*. L. (*Pharm. Weeckblad*, 1932, 78, 69.)
- [72] WINDAUS (A.), HAMPE (F.) et RABE (H.). — *Z. Physiol. Ch.*, 1926, 160, p. 301; *Journ. Pharm. et Chimie*, 1928, 18, p. 417.
-

TABLE DES MATIÈRES

Avant-propos	9
Introduction	11

PREMIÈRE PARTIE RECHERCHES ANTÉRIEURES

CHAPITRE PREMIER. — Etude botanique	15
I. Distribution	16
II. Historique	17
III. Description	19
IV. Caractères anatomiques	20
V. Localisation de la saponine	22
VI. Parties utilisées	25
CHAPITRE DEUXIÈME. — Etude chimique	26
I. Généralités	26
II. Etude particulière de la saponine de saponaire ou saporubrine	33
CHAPITRE TROISIÈME. — Etude physiologique	47
I. Propriétés générales des saponines	47
II. Propriétés de la saponaire et de sa saponine	50
CHAPITRE QUATRIÈME. — Emplois et formes pharmaceutiques de la saponaire	56

DEUXIÈME PARTIE
RECHERCHES PERSONNELLES

CHAPITRE PREMIER. — Etude des variations de l'indice hémolytique	63
I. Généralités	63
II. Les préparations aqueuses	69
Influence de la température	69
Influence du mode d'extraction	76
Influence du pH	92
III. Les préparations alcooliques	
CHAPITRE DEUXIÈME. — Etude des variations du chiffre-mousse	92
I. Généralités	92
II. Les préparations aqueuses	96
Influence du mode d'extraction	96
Influence du pH	100
III. Les préparations alcooliques	103
ADDENDUM	109
CONCLUSIONS.....	111
BIBLIOGRAPHIE.....	115

En ma qualité de censeur de
tour j'ai lu la Thèse ayant pour
titre :

*Contribution à l'étude de la
matière Spicinale en Phar-
macie,*

par Pierre AVEZOU.

Je pense que la Faculté peut en
permettre l'impression.

Montpellier, le 14 Octobre 1942.

Le Professeur,
A. ASTRUC.

Vu :

Montpellier, le 14 Octobre 1942.

Le Doyen .

ASTRUC.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Montpellier, le 15 Octobre 1942.

Le Recteur,
SARRAILH.



